

Efecte del Glifosat sobre Individus
de dues Poblacions de
Digitaria sanguinalis
(Regió Pampeana i Vallès Oriental):
Avaluació Preliminar de Tolerància

Cristina Gonzàlez i Flor
Màster en Sistemes Agrícoles Periurbans
Departament d'Enginyeria Agroalimentària i Biotecnologia
Escola Superior d'Agricultura de Barcelona
ESAB- UPC

Professors Ponents: Dra. Maria Teresa Mas Serra
Dr. Antoni Maria Claret Verdú González

Castelldefels, juliol del 2008

TÍTOL: Efecte del glifosat sobre individus de dues poblacions de *Digitaria sanguinalis* (Regió Pampeana i Vallès Oriental): avaluació preliminar de tolerància.

AUTORA: Cristina González i Flor

PROFESSORS TUTORS: Dra. Maria Teresa Mas Serra
Dr. Antoni Maria Claret Verdú González

RESUM

L'ús intensiu d'herbicides pel control de les males herbes dels camps de cultius pot provocar l'aparició del fenomen de la resistència. Una aplicació contínua d'un mateix herbicida o de molts que tenen la mateixa forma d'actuar sobre les plantes, pot originar una selecció d'individus amb l'habilitat de sobreviure, que deixaran descendència igualment resistent a l'efecte de l'agroquímic.

A la regió pampeana (província de Buenos Aires, Argentina) la soja ha esdevingut un cultiu preferencial, en rotació amb blat i blat de moro o en règim de monocultiu, sota l'ús de la sembra directa. Així doncs, indefectiblement es practica un control químic de les males herbes. La matèria activa més emprada en aquella zona és el glifosat, un herbicida sistèmic, no selectiu i d'ampli espectre, que actua inhibint la formació d'un enzim que participa en la síntesi de proteïnes, àcid indol acètic i clorofil·la.

L'objectiu principal d'aquest projecte és detectar l'existència de fenòmens de tolerància al glifosat de plantes de *Digitaria sanguinalis*, mala herba anual típica en els camps de cultiu, de poblacions procedents de camps de la regió de la Pampa, en estudis preliminars.

S'han dissenyat experiments per comparar en condicions de laboratori el desenvolupament de plantes de *Digitaria sanguinalis* (poblacions de l'Argentina i de Caldes de Montbui) després d'aplicar-hi diferents dosis de glifosat, per sobre i per sota de la recomanada pel fabricant. Els tractaments es realitzaren en diferents estadis de desenvolupament de les plantes.

Per a la comparació entre plantes de diferent procedència, fase de creixement i dosi d'aplicació es controlà la germinació, la mortalitat, el nombre de fulles als 0, 10 i 20 dies després de tractament, els dies a floració i a fructificació, i la biomassa.

MOTS CLAU: DR50, herbicida sistèmic, males herbes, estadi fenològic, biomassa.

TÍTULO: Efecto del glifosato sobre individuos de dos poblaciones de *Digitaria sanguinalis* (Región Pampeana y Vallés Oriental): Evaluación preliminar de Tolerancia

AUTORA: Cristina González i Flor

PROFESORES TUTORES: Dra. Maria Teresa Mas Serra

Dr. Antoni Maria Claret Verdú González

RESUMEN:

El uso intensivo de herbicidas para el control de malas hierbas de los campos de cultivo puede provocar la aparición del fenómeno de la resistencia. Una aplicación continua de un mismo herbicida, o de muchos que tienen la misma forma de actuar sobre las plantas, puede originar una selección de individuos con la habilidad de supervivencia, que dejen descendencia igualmente resistente a el efecto del agroquímico.

En la Región Pampeana (provincia de Buenos Aires, Argentina) la soja se ha convertido en un cultivo preferencial, en rotación con trigo y maíz o en monocultivo, bajo el uso de la siembra directa. Así, indefectiblemente se practica un control químico de las malezas. La materia activa más usada en esa zona es el glifosato, un herbicida sistémico, no selectivo y de amplio espectro, que actúa inhibiendo la formación de una enzima que participa en la síntesis de proteínas, el ácido indol acético y la clorofila.

El objetivo principal de este proyecto es detectar la existencia de fenómenos de tolerancia al glifosato de plantas de *Digitaria sanguinalis*, una mala hierba anual típica en los campos de cultivo, de poblaciones procedentes de campos de la Región Pampeana, en estudios preliminares.

Se han diseñado experimentos para comparar en condiciones de laboratorio el desarrollo de plantas de *Digitaria sanguinalis* (poblaciones de Argentina y de Caldes de Montbui) después de aplicarles diferentes dosis del glifosato, por encima y por debajo de la dosis recomendada por el fabricante. Los tratamientos se han realizado en diferentes estadios de desarrollo de las plantas.

Para la comparación entre plantas de diferente procedencia, fase de crecimiento y dosis aplicada se controló la germinación, la mortalidad, el número de hojas a los 0, 10 i 20 días después del tratamiento, los días a floración y a fructificación, y la biomasa.

PALABRAS CLAVE: DR50, herbicida sistémico, malezas, estadio fenológico, biomasa.

TITTLE: Glyphosate's effect on two populations of *Digitaria sanguinalis*
(Pampa's Region and Barcelona): Tolerance preliminary evaluation.

AUTHORESS: Cristina González i Flor

TUTORIAL TEACHERS: Dra. Maria Teresa Mas Serra
Dr. Antoni Maria Claret Verdú González

ABSTRACT:

Intensity in use of herbicides to control crop's field weed can produce apparition of resistance phenomena. A single herbicide continuous application, mostly, or different herbicides which have the same mode of action on the plants, can produce a individual selection who will have the survivor ability, it will leave descendents with the same resistance in front of the chemistry effect.

At the Pampa's region (Argentina) soybean has income a preferential crop, in rotation with wheat and corn or in monoculture system, under a production technology based on no-tillage. Because of that, the farmers have to control weeds with chemistry's products. The most used active matter in this zone is glyphosate. This is a systemic, non-selective and large spectrum, it works inhibiting an enzyme formation, who participate in the synthesis of proteins, acid indol acetic and clorophyla.

The aim of this project is to detect the existence of resistances to glyphosate in plants of *Digitaria sanguinalis* in a preliminarly evaluation, an annual weed typical in crop fields, of populations from de Pampa's region.

It's designed an experimental study to compare, in laboratory conditions, the plants of *Digitaria sanguinalis* (from Argentina and from Caldes de Montbui) development, after the application of glyphosate in different doses, up or down of the suggested dose published by the manufacturer. The treatments were realized in different development stadiums of plants.

To compare plants with different precedence, development phase and glyphosate dose of application, we controled the germination, mortality, leaves number on 0, 10 and 20 after the treatment, number of days to flowering and fructification, and the biomass.

KEY WORDS: DR50, systemic herbicide, weed, phenological state, biomass.

Agraïments

La primera plana del meu Projecte Final de Màster la vull dedicar a agrair a totes les persones que, d'una o altra manera, m'han ajudat a encarar-lo i donar-li forma.

Per començar, vul donar-lis els meus més sincers agraïments als meus dos tutors del projecte. A la Dra. Maite Mas i al Dr. AMC Verdú per dirigir-me el projecte i, sobretot, per totes les grans oportunitats que m'ofereixen des de fa temps.

Vull agrair també a la meva gent: al Darius, a la Marta i a la meva mare. Tots tres saben que els necessito al meu costat per anar-me animant a fer coses noves i a avançar en l'aventura de la meva vida, estigui a prop o lluny.

Agraeixo també la Montse Gallart per la seva ajuda prestada en el desenvolupament d'aquest projecte i per la seva companyia als laboratoris.

El meu agraïment a l'equip del Dr. E.H. Satorre de la Cátedra de Cereales de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires per la recol.lecció i l'enviament de les llavors de *Digitaria sanguinalis* de la regió pampeana (en el marc del projecte A/6759/06 AECI-MAEC). I, en particular, a Antonio C. Guglielmini (Ing. Agr. M. Sc.).

Sumari

1. Introducció	1
1.1. Agricultura a la Regió Pampeana	3
1.2. Glifosat	4
1.3. Llavors transgèniques Roundup Ready	6
1.3.1. Cultiu de transgènics resistents a herbicides.....	7
1.4. Importància de l'ús d'herbicides en l'aparició de toleràncies i resistències en les males herbes	8
1.5. Aparició de toleràncies i resistències a herbicides	9
1.6. <i>Digitaria sanguinalis</i> (L.) Scopoli	11
1.6.1. Gènere <i>Digitaria</i> Haller	13
1.6.2. Descripció morfològica de <i>Digitaria sanguinalis</i>	14
1.6.3. Descripció fenològica de <i>Digitaria sanguinalis</i>	17
 2. Objectius	 19
 3. Material i Mètodes	 23
3.1. Preparació i desinfecció de llavors de <i>Digitaria sanguinalis</i>	25
3.2. Germinació de <i>Digitaria sanguinalis</i>	26
3.2.1. Sembra de <i>Digitaria sanguinalis</i> pel control de la germinació	26
3.2.2. Metodologia de control de germinació de <i>Digitaria sanguinalis</i>	27
3.3. Aplicació de Glifosat sobre plantes de <i>Digitaria sanguinalis</i>	27
3.3.1. Sembra de <i>Digitaria sanguinalis</i> per tractaments amb Glifosat	27
3.3.1.1. Sembra en placa per a tractaments en estadi de llavor i una fulla	27
3.3.1.2. Sembra en safata per a tractaments en estadi 2-3 fulles i 3-4 fulles, i per avaluar variacions de la biomassa... 28	
3.3.2. Dosis d'aplicació de Glifosat	29
3.3.3. Preparació i metodologia d'aplicació de Glifosat	31

3.3.3.1. Sobre llavors de <i>Digitaria sanguinalis</i>	31
3.3.3.2. Sobre <i>Digitaria sanguinalis</i> a una fulla	31
3.3.3.3. Sobre <i>Digitaria sanguinalis</i> a estadi fenològic 2-3 fulles, 3-4 fulles i per valorar variacions en la biomassa	32
3.3.3.3.1. Estadi fenològic 2-3 fulles	33
3.3.3.3.2. Estadi fenològic 3-4 fulles	34
3.3.3.3.3. Valoració de les variacions en la biomassa	35
3.3.4. Metodologia de control del desenvolupament de <i>Digitaria sanguinalis</i> després de tractament amb glifosat	35
3.3.5. Metodologia de control de la biomassa de <i>Digitaria sanguinalis</i> després de tractament amb glifosat	36
3.4. Variables obtingudes	36
3.5. Tractament de les dades	38
3.5.1. Anàlisi de la variància i separació de mitjanes	38
3.5.2. Corbes dosi-resposta	38
4. RESULTATS	41
4.1. Avaluació de la germinació de llavors de <i>Digitaria sanguinalis</i>	43
4.2. Avaluació del percentatge de germinació després de fer un tractament sobre llavors de <i>Digitaria sanguinalis</i>	45
4.2.1. Corbes dosi-resposta	48
4.3. Avaluació de la mortalitat en plàntules en estadi una fulla de <i>Digitaria sanguinalis</i> després de tractar-les amb glifosat	49
4.3.1. Corba dosi-resposta	51
4.4. Avaluació de l'efecte de l'aplicació de diferents dosis de glifosat sobre plantes de <i>Digitaria sanguinalis</i> a estadi 2-3 fulles....	52
4.4.1. Avaluació del nombre de fulles	53
4.4.1.1. Corba dosi- resposta	55
4.4.2. Avaluació del percentatge de mortalitat	57
4.4.2.1. Corba dosi-resposta	61
4.5. Avaluació de l'efecte de l'aplicació de diferents dosis de glifosat sobre plantes de <i>Digitaria sanguinalis</i> a estadi 3-4 fulles..	62
4.5.1. Avaluació del nombre de fulles	62
4.5.1.1. Corbes dosi- resposta	64

4.5.2. Avaluació del percentatge de mortalitat	66
4.5.2.1. Corba dosi-resposta	68
4.6. Biomassa	69
4.7. Dosi DR-50	71
4.8. Mortalitat segons l'estadi fenològic de <i>Digitaria sanguinalis</i>	73
5. Discussió de Resultats	75
5.1. Germinació de <i>Digitaria sanguinalis</i>	77
5.2. Efecte del glifosat sobre llavors de <i>Digitaria sanguinalis</i>	77
5.3. Efecte del glifosat sobre <i>Digitaria sanguinalis</i> a estadi 1 fulla	78
5.4. Efecte del glifosat sobre <i>Digitaria sanguinalis</i> a estadi 2-3 fulles..	79
5.4.1. Variació del nombre de fulles	79
5.4.2. Percentatge de mortalitat	80
5.4.3. Biomassa	80
5.5. Efecte del glifosat sobre <i>Digitaria sanguinalis</i> a estadi 3-4 fulles..	81
5.5.1. Variació del nombre de fulles	81
5.5.2. Percentatge de mortalitat	81
5.6. Efecte del glifosat segons l'estadi fenològic de <i>Digitaria sanguinalis</i>	82
5.7. DR50	82
6. Conclusions	85
7. Bibliografia	89
8. Annex. Imatges de l'estudi	99

1. INTRODUCCIÓ

1.1. Agricultura a la Regió Pampeana

La Regió Pampeana és una zona situada a la part central de l'Argentina, formada per les províncies de Santa Fe, Córdoba, Entre Ríos, Buenos Aires i La Pampa. La seva economia es basa en la producció i industrialització agrícola i ramadera.

A Argentina la producció agrària extensiva està principalment lligada, tant per magnitud de la superfície com pel benefici econòmic, a la producció de blat i blat de moro, com a cultiu cerealístic, i de soja i gira-sol, com a oleaginós. Dins d'Argentina, a la Regió Pampeana és on es concentra la major part de la producció extensiva.

Abans, el tipus d'explotació més habitual era la que combinava l'activitat agrícola i la ramadera, o la que era únicament ramadera. En els darrers 20 anys, però, la producció agrícola d'aquesta regió ha experimentat un profund canvi.

Aquesta transformació ha consistit en la introducció de noves tècniques i nous dissenys de plantació, tals com la sembra directa, les rotacions, la incorporació de varietats i híbrids transgènics o l'augment en l'ús de fertilitzants. S'han desencadenat canvis molt importants com la reducció de superfície de pastura, la disminució en la producció de matèria seca i l'empobriment i deteriorament físic, químic i biològic dels sòls (Satorre, 2003).

La producció agrícola argentina ha canviat la seva manera tradicional de produir, amb un baix consum d'inputs i rendiments mitjans, cap a un nou sistema productiu augmentant considerablement la producció, i que va lligat al consum d'inputs externs com poden ser els fitosanitaris, herbicides o maquinària, alhora que fa augmentar l'erosió i l'empobriment progressiu del sòl (Pengue, 1996).

1.2. Glifosat

Glifosat és el nom de la matèria activa d'un herbicida d'ampli espectre, no selectiu i que s'aplica en postemergència (Weed Science Society of America, 1994). La seva estructura química és N-fosfonometil glicina, $C_3H_8NO_5P$. És un àcid dèbil compost la meitat de glicina i l'altre meitat de fosfonometil, compostos dels que en surt el nom. Químicament i físicament, s'assembla a moltes substàncies que es troben a la natura, no és mòbil a l'aire ni en el sòl, no té gran persistència biològica i tampoc és bioacumulable ni es biomagnifica al llarg de la cadena alimentària (Williams *et al.*, 2000).

Els descobridors d'aquest compost i que van descobrir la seva capacitat com a herbicida van ser un grup de científics de la companyia Monsanto liderats pel Dr. John Franz a l'any 1970 (Baird *et al.*, 1971).

La matèria activa es desplaça ràpidament des de les fulles sobre les que ha caigut fins a altres parts de la planta tractada, inclosos els borrons de les puntes de les tiges i els àpexs meristemàtics de les arrels, i en òrgans subterranis d'emmagatzematge. És molt efectiu en el control de males herbes perennes. Si s'aplica al sòl, presenta poca activitat ja que s'uneix fortament a les molècules orgàniques, així no queda disponible per les plantes.

El glifosat mata les plantes mitjançant la inhibició de l'enzim 5-enolpiruvil-siquimat-3-fosfat sintetasa (EPSPS). Aquest enzim es troba principalment en els plastids de les cèl·lules vegetals, encara que també es pot trobar en el citoplasma.

L'enzim EPSPS és qui catalitza la reacció de siquimat-3-fosfat i de fosfoenolpiruvat per formar 5-enolpiruvil-siquimat-3-fosfat (ESP). L'ESP es desfosforilat posteriorment a corismat, precursor essencial en les plantes del aminoàcids aromàtics fenilalanina, tirosina i triptòfan. Aquests aminoàcids són la base per a la formació de pèptids i metabòlits secundaris, per la qual cosa, també es veuen reduïts els continguts en planta de proteïnes, àcid indol acètic i clorofil·la (Solomon *et al.*, 2005).

Encara que EPSPS és l'únic enzim que es coneix que afecta el glifosat, les aplicacions tenen repercussió sobre molts processos fisicoquímics i fisiològics de les plantes (Cole, 1984); entre aquestes es troben les reduccions en la fotosíntesis i la degradació de la clorofil·la, la inhibició de l'auxina de transport i la millora de l'auxina d'oxidació.

La mort de la planta és lenta i es manifesta inicialment per una parada del creixement, seguida de clorosis i, finalment, de necrosis en els teixits vegetals.

Des que es va començar a comercialitzar, a l'any 1976, l'herbicida de glifosat s'ha convertit en el més emprat a nivell mundial. Es tracta d'un d'entre els que hi ha al mercat que presenta major eficiència (Monsanto, 2005). La seva versatilitat en el control, la viabilitat econòmica del seu ús i l'ampli espectre de males herbes que afecta han estat els punts forts d'aquest herbicida. Al ser d'acció sistèmica controla molt bé les plantes perennes, fet que va provocar que les produccions augmentessin i que es poguessin abaratir costos al poder abandonar les escardes manuals.

Actualment, es comercialitza a més de 100 països i la seva aplicació ha anat en augment en la darrera dècada degut a l'aparició dels cultius modificats genèticament per tolerar-lo (Williams et al., 2000; Wolfenbarger i Phifer, 2000).

Els punts dèbils del glifosat són: (i) la necessitat de dosis altes per a controlar les males herbes de fulla ample que generalment en són més tolerants; (ii) l'antagonisme amb l'aigua de més duresa i amb altres barreges; (iii) la baixa velocitat d'actuació i poca resistència al rentat, si es compara amb el paraquat.

Les gramínies solen ser més susceptibles al glifosat que les plantes de fulla ampla. Les formulacions líquides són més apropiades per operacions a gran escala, en aquest cas s'utilitzen altes concentracions de glifosat. Per a l'aplicació amb pulveritzadors, el tamany de gota pren molta importància, ja que com més petit és el tamany de la gota hi ha més retenció de l'herbicida a la superfície de la fulla (MacIsaac et al., 1991; Nalewaja et al., 1992).

Els factors ambientals són molt significants en l'activitat del glifosat. Així, poden tenir efectes sobre les plantes condicionant-ne la susceptibilitat, i sobre l'herbicida directament. La seva eficàcia és menor si les plantes estan en situació d'estrés hídric (Adkins et al., 1998), si la temperatura és baixa i la planta creix amb el sòl a capacitat de camp (McWhorter et al., 1980). Per contra, és més efectiu en humitats relatives altes, ja que afavoreix l'absorció (Wills et al., 1978).

El glifosat és absorbit ràpidament al sòl, queda immobilitzat i és degradat per diverses bactèries en àcid aminometilfofònic o sarcosi, i finalment, en fosfat inorgànic, amoni i diòxid de carboni (Franz et al., 1997).

1.3. Llavors transgèniques Roundup Ready

L'any 1996 entren a comercialitzar-se al mercat argentí llavors de soja i cotó transgènics: la soja RR (*Roundup Ready*) resistent a l'herbicida glifosat, i el cotó Bt (*Bacillus thuringiensis*) resistent a l'atac de lepidòpters.

Aquestes noves varietats han permès disminuir els costos de producció a l'Argentina al voltant del 15%, si es té en compte tot el conjunt del sistema productiu entrant (Torrighia, 1999).

El cultiu de soja s'ha consolidat com a dominant en les rotacions de la major part d'explotacions, gràcies a la rendibilitat i senzillesa que ofereix la seva capacitat de resistència al glifosat, juntament amb l'ús de la tècnica de sembra directa, brindant a l'agricultor la possibilitat de controlar les males herbes dels seus camps havent-hi d'invertir menys costos. La quantitat dels principis actius emprats es va reduir de més de 100 productes disponibles a un de sol, el glifosat.

Tot plegat ha provocat que a Argentina hagin desaparegut 150 mil productors familiars. S'ha concentrat la superfície explotada en poques empreses i aquestes són més industrialitzades. L'agricultura ha passat de 40 a quasi 80

milions de tones de producció (tenint en compte la soja, blat, blat de moro i gira-sol), amb un augment de l'àrea sembrada d'un 35%.

Per la seva part, la superfície agrícola de la Regió Pampeana s'ha triplicat, i la sembra de soja s'ha expandit (Bernaudo, 2003). Actualment, per exemple, representa un 65% de la superfície sembrada de cultius anuals en la província d'Entre Ríos (valor extrapolable a la resta de la Regió Pampeana).

1.3.1. Cultiu de transgènics resistents a herbicides

Segons l'informe anual del Servei Internacional per l'Adquisició d'Aplicacions Agrobiotecnològiques (*International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications*, ISAAA) de l'any 2007 (James, 2007), l'Argentina segueix sent el segon productor mundial de cultius transgènics amb un 22% de la superfície mundial dedicada a aquests tipus de cultius en l'any 2007, de la qual un 83,8% està dedicat al cultiu de la soja RR.

A nivell mundial, la superfície destinada al cultiu de plantes transgèniques a tot el món durant el 2007 va seguir creixent per dotzè any consecutiu, per la qual cosa s'han assolit els més de 114,3 milions d'hectàrees (James, 2007). El nombre de països productors d'aquests cultius es va ampliar fins als 23, dels quals EEUU és el que té més superfície plantada (50% sobre el total de superfície de transgènics al món), seguit d'Argentina (22%) i Brasil (17%).

La soja transgènica ha seguit sent el principal cultiu modificat genèticament al 2007, així passa a ocupar un 57% de la superfície mundial dedicada a biotecnològics, seguida del blat de moro de ràpid creixement (25%), del cotó (13%) i de la colza (5%).

La modificació genètica estrella des de l'inici de la seva comercialització han estat les resistències a herbicides, els cultius de les quals ocupen a nivell mundial al 2007 el 63% de la superfície dedicada a transgènics.

Al 2007 Espanya ocupa la dotzena posició amb unes 70 mil hectàrees cultivades de blat de moro, al capdavant d'Europa, observant-se un increment del 40% respecte el 2006.

1.4. Importància de l'ús d'herbicides en l'aparició de toleràncies i resistències en les males herbes

Segons la Weed Science Society of America (1998) la resistència a herbicides és l'habilitat heretada d'una planta per sobreviure i reproduir-se després de l'exposició a una dosi d'herbicida normalment letal per l'espècie en estat salvatge. En canvi, la tolerància als herbicides és la capacitat inherent que té una espècie per sobreviure i reproduir-se després d'un tractament herbicida, sense implicar que hagi hagut un procés de selecció o manipulació genètica.

Les poblacions d'espècies arvenses solen estar formades per un conjunt d'individus que presenten diferències en la seva morfologia, índex de creixement, precocitat, producció de llavors o latència, entre d'altres. Això és degut al fet que la major part de les males herbes són al·lògames (Grignac, 1978), per tant hi ha fecundació creuada, entre individus genèticament diferents; s'originen combinacions genètiques noves i es veu afavorida la constant generació de variabilitat genètica intrapoblacional.

L'ús intensiu i continu en un camp de cultiu d'un únic herbicida, sobretot a causa de la seva activitat residual, pot generar una selecció no desitjada de poblacions de males herbes tolerants a herbicides. Això, juntament amb el fet que l'herbicida eliminarà les plantes sensibles, de manera que afavoreixi la *fitness* de les resistents degut a la falta de la competència habitual, afavorirà la presència de biotips de males herbes resistents.

Aquest fenomen és més propens a ocórrer amb alguns herbicides que no pas amb d'altres. Tot i això, el nombre total de casos de noves resistències a herbicides augmenta anualment (Holt i LeBaron, 1990; Dyer et al., 1993). Per aquest motiu, convertir la major part d'un cultiu d'una regió en tolerant a un únic herbicida pot destruir la utilitat del mateix. Per això, les cases de llavors veuen

que desenvolupar cultivars tolerants a un sol herbicida pot ser una pobre inversió a llarg termini, encara que pot ser beneficiosa econòmicament a curt termini.

Un altre problema en la utilització de resistències en algunes espècies cultivades és la probabilitat de fecundació creuada entre les plantes del cultiu i les espècies arvenses (males herbes) properes filogenèticament (per exemple, entre el gira-sol cultivat o el salvatge). Els gens nous de tolerància a herbicides incorporats en les llavors del cultiu poden fàcilment incorporar-se a les poblacions de la mala herba evolutivament propera, de manera que afecten negativament a l'efectivitat de l'herbicida i al desenvolupament de la pròpia espècie o de les espècies silvestres.

Els cultivars tolerants a herbicides poden transferir el problema en els cultius successius si s'empren el mateix herbicida, ja que, per exemple, el blat de moro resistent es pot convertir en una mala herba en el cultiu de la soja.

1.5. Aparició de toleràncies i resistències a herbicides

La creixent difusió dels cultius RR i de la sembra directa a l'Argentina, lligat amb l'ús exclusiu del glifosat per el control de les males herbes, pot provocar que algunes espècies resultin més tolerants a aquest herbicida que d'altres i que hi puguin aparèixer resistències.

A l'Argentina només s'han registrat dues resistències de males herbes a glifosat, registrades en els anys 2005 i 2006 (veure Taula 1.1). En els dos casos la resistència la presenta l'espècie *Sorghum halepense*.

A nivell mundial, existeix coincidència a considerar que la resistència a glifosat és de rara ocurrència (Heering et al., 2004). Des de la seva aparició, el glifosat ha seleccionat una quantitat molt menor de biotips resistents en comparació amb altres principis actius de vida comercial molt més recent (Baerson et al., 2002), de manera que la probabilitat de seleccionar resistència a glifosat és

més d'un milió de vegades menor que amb herbicides inhibidors de l'enzim sintetasa d'acetolactat (ALS).

Taula 1.1. Relació d'espècies de males herbes resistents al glifosat segons el país i any de registre de la resistència (Font: WeedScience, 2008).

Species	Country
<i>Amaranthus palmeri</i>	2005 - USA (Georgia) 2006 - USA (Arkansas) 2006 - USA (Tennessee)
<i>Amaranthus rudis</i>	2005 - USA (Missouri) 2006 - USA (Illinois) 2006 - USA (Kansas) 2007 - USA (Minnesota)
<i>Ambrosia artemisiifolia</i>	2004 - USA (Arkansas) 2004 - USA (Missouri) 2007 - USA (Kansas)
<i>Ambrosia trifida</i>	2004 - USA (Ohio) 2005 - USA (Arkansas) 2005 - USA (Indiana) 2006 - USA (Kansas) 2006 - USA (Minnesota) 2007 - USA (Tennessee)
<i>Conyza bonariensis</i>	2003 - South Africa 2004 - Spain 2005 - Brazil 2005 - Brazil 2006 - Colombia 2007 - USA (California)
<i>Conyza canadensis</i>	2000 - USA (Delaware) 2001 - USA (Kentucky) 2001 - USA (Tennessee) 2002 - USA (Indiana) 2002 - USA (Maryland) 2002 - USA (Missouri) 2002 - USA (New Jersey) 2002 - USA (Ohio) 2003 - USA (Arkansas) 2003 - USA (Mississippi) 2003 - USA (North Carolina) 2003 - USA (Ohio) 2003 - USA (Pennsylvania) 2005 - Brazil 2005 - USA (California) 2005 - USA (Illinois) 2005 - USA (Kansas) 2006 - China 2006 - Spain 2007 - Czech Republic 2007 - USA (Michigan)

Species	Country
<i>Digitaria insularis</i>	2008 - Brazil 2008 - Paraguay
<i>Echinochloa colona</i>	2007 - Australia (New South Wales)
<i>Eleusine indica</i>	1997 - Malaysia
<i>Euphorbia heterophylla</i>	2006 - Brazil
<i>Lolium multiflorum</i>	2001 - Chile 2002 - Chile 2003 - Brazil 2004 - USA (Oregon) 2005 - USA (Mississippi) 2006 - Spain
<i>Lolium rigidum</i>	1996 - Australia (Victoria) 1997 - Australia (New South Wales) 1998 - USA (California) 2000 - Australia (South Australia) 2001 - South Africa 2003 - Australia (Western Australia) 2003 - South Africa 2005 - France 2005 - France 2006 - Spain
<i>Plantago lanceolata</i>	2003 - South Africa
<i>Sorghum halepense</i>	2005 - Argentina 2006 - Argentina 2007 - USA (Arkansas)

1.6. *Digitaria sanguinalis* (L.) Scopoli

Del llatí *digitus* (dit), en referència a la posició dels raïms en les seves inflorescències, i *sanguis* (sang) en al·lusió al color de les mateixes, *Digitaria sanguinalis* (L.) Scop. és una planta anual que es distribueix àmpliament des de la latitud 50° N a 40°S. Es tracta doncs, d'una mala herba d'importància econòmica mundial, sobretot en zones temperades i tropicals (Holm et al., 1977; Schroeder et al., 1993; Webster y Coble, 1997).

Degut a la seva capacitat d'adaptació a diferents condicions ambientals, aquesta espècie es pot trobar en un nombre bastant elevat de països. Els camps de cultiu, jardins o zones trepitjades, són alguns dels llocs on és més fàcil que aparegui aquesta planta.

Taula 1.2. Noms comuns de l'espècie *Digitaria sanguinalis* (World Wide Web Multilingual Multiscript Plant Name Database, 2005).

Llengua	Nom comú
Català	Forcadella, panissalla, pota de gall, xereix
Castellà	Pasto cuaresma (Argentina), guarda rocío, guarda sereno, azulita, gramilla, pata de gallina, garrachuelo.
Anglès	Crabgrass, hairy finger-grass, large crabgrass, hairy crabgrass, purple crabgrass, redhair crabgrass
Francès	Manne terrestre, panis manne, sanguinelle, digitale sanguine, panic sanguin, millet sanguin
Italià	Sanguinella comune, sanguinella, sanguinaria
Alemanys	Blutfennich, bluthirse, mannagrass, blutrot fingerhirse.
Portuguès	Milhã-digitada

Taula 1.3. Classificació de *Digitaria sanguinalis* (L.) Scop. per United States Department of Agriculture (Font: USDA, [2000?]).

Regne	Plantae – Plantes
Subregne	Tracheobionta – Plantes vasculars
Superdivisió	Spermatophyta – Plantes de llavors
Divisió	Magnoliophyta – Plantes amb flor
Classe	Liliopsida– Monocotiledònies
Subclasse	Commelinidae
Ordre	Cyperales
Família	Poaceae
Gènere	<i>Digitaria</i> Haller
Espècie	<i>Digitaria sanguinalis</i> (L.) Scopoli

Considerada al 1977 per Holm et al. (1977) com una de les tres espècies amb més importància a nivell mundial. Al 1991, García i Fernández-Quintanilla (1991) defineix *Digitaria sanguinalis* com una de les 15 espècies de males herbes més importants del món. Al 2002 cinquanta-sis països tenien documentada aquesta planta com a mala herba de trenta tres cultius (Walker and Tilley, 2002). A Espanya es troba disseminada per tot el territori (Villaries, 1979).

Taula 1.4. Relació dels principals cultius a nivell mundial i els corresponents països en els que s'ha documentat la presència de *Digitaria sanguinalis* (Holm et al., 1977). Els països en negreta són els que han documentat aquesta espècie com a mala herba principal del cultiu.

Cultiu	Països
Canya de sucre	Austràlia, Cuba, Índia i Estats Units. Argentina, Brasil, Les Filipines i Taiwan.
Cacahuet	Brasil, Colòmbia, Índia i Israel. Indonèsia, Taiwan i Estats Units.
Cotó	Israel i Estats Units. Espanya, Swazilàndia i Turquia.
Blat de moro	Brasil, Canadà, Colòmbia, Israel, Itàlia, Mèxic, Nova Zelanda, Les Filipines, Espanya i Rússia. Portugal i Taiwan.
Sorgo	Colòmbia, Israel, Itàlia i Estats Units. Taiwan.

1.6.1. Gènere *Digitaria* Haller

El gènere *Digitaria* Haller pertany a la tribu de les Paniceae, de la subfamília Panicoideae i de la família de les Poàcies o Gramínies. Comprèn a nivell mundial unes 220 espècies, distribuïdes per les zones temperades, tropicals i subtropicals dels dos hemisferis (Watson i Dallwitz, 1992).

Les fulles són típicament linears o lanceolades amb una lígula membranosa.

Les inflorescències del gènere *Digitaria* estan formades per un o més raïms espiciformes, els quals es disposen en verticils o en la forma alterna al llarg d'un eix principal.

En els raïms hi ha les espiguetes, en grups de 2 a 4, amb la gluma inferior, generalment reduïda, es disposa en forma externa respecte el raquis del raïm. El gènere *Digitaria* presenta també una lema superior cartilaginosa, glabra i amb les vores membranoses, generalment hialines i plegades sobre la pàlea superior.

1.6.2. Descripció morfològica de *Digitaria sanguinalis*

- **Estructures vegetatives**

Digitaria sanguinalis és una planta d'alçada entre 10 i 30 cm (Häfliger i Basilea, 1972), encara que s'han trobat individus de fins a 60 cm. Forma mates (Bolòs et al., 1993), que li surten de la base de les tiges, que solen ser geniculades, ascendents, erectes, robustes i glabres. Normalment estan doblegades bruscament a prop de la base, on els nusos inferiors tenen la capacitat d'emetre arrels adventícies o brots aplanats al terra. Els seus entrenusos, de cilíndrics a canaliculats, poden fer fins a 10 cm de longitud (Giraldo Cañas, 2005). Els nusos són glabres i de color castany fosc.

Les beines solen ser més curtes que els entrenusos i glabrescents, especialment les beines inferiors (Behrendt i Hanf, 1979). Les lígules són membranoses, primes i irregularment dentades, fan menys de 3 mm de llargada (Giraldo Cañas, 2005) i la seva coloració és verda amb algunes tonalitats de vermells o violetes (Behrendt i Hanf, 1979).

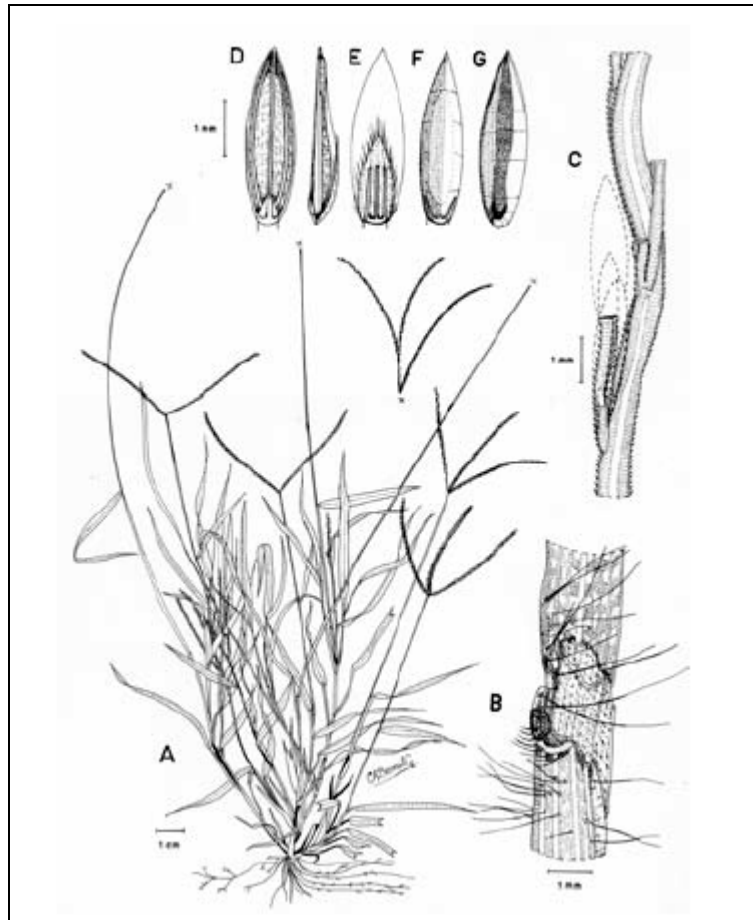


Figura 1.1. *Digitaria sanguinalis* (L.) Scop.: A. aspecte general; B. Regió ligular; C. Part d'un raïm; D. Espigueta, vista des de la lema inferior (frontal i lateral); E. Espigueta, vista des de la gluma superior; F. Anteci superior, vist des de la lema superior; G. Anteci superior, vist des de la pàlea superior. (Font: Giraldo Cañas, 2005).

Les fulles són linears, lanceolades, planes i piloses. Solen fer una llargada d'entre 3 i 14 cm amb una amplada inferior al centímetre. Presenten un nervi central blanc-vermellós i un àpex acuminat (Giraldo Cañas, 2005). Estan cobertes per ambdós costats per pèls sedosos i brillants. La coloració de les fulles és verda i a vegades pot presentar tonalitats de vermell i violeta.

Les arrels de *Digitaria sanguinalis* poden arribar a allargar-se fins a 4,5 m de diàmetre en una planta madura i 2 m de profunditat en plantes adultes (Holm et al., 1977).

- **Estructures reproductores**

Les inflorescències de *Digitaria sanguinalis* són en forma de panícula formada per 3-15 raïms unilaterals, ascendents i erectes, disposats de forma unidigitada (Bolòs et al., 1993). A vegades pot prendre coloracions violàcies. El peduncle és bastant llarg, pot arribar a fer fins a 24 cm de llargada (Giraldo Cañas, 2005).

Digitaria sanguinalis presenta les seves espiguetes disposades de forma binada sobre el raquis, fan una 3.5 mm d'ample per 1 mm de llarg (Bolòs et al., 1993). Les espiguetes són lanceolades, glabres, pedicel·lades i amb els pèls simples i suaus (Giraldo Cañas, 2005). Solen contenir dues glumes: la inferior i la superior. La gluma inferior és membranosa, glabra, enerva i triangular, i pot fer uns 5 mm de longitud (Giraldo Cañas, 2005). La gluma superior, en canvi, és trinervada, de forma triangular i una mica pilosa (Giraldo Cañas, 2005), la seva longitud és un terç o la meitat de la longitud que fa l'espigueta (Bolòs et al., 1993).

Les flors de *Digitaria sanguinalis* són hermafrodites tenen tres estams i estigmes terminals (Villarías, 1979), i presenten una coloració violàcia. La lema fa entre 2.9 i 3.3 mm de longitud, és estèril, fortament nervada, pàl·lida i grisosa, amb els internervis laterals pubescents (Holm et al., 1977). La pàlea té els marges membranosos, és cartilaginosa, glabra, plegada sobre la pàlea superior i cobrint-la quasi completament (Giraldo-Cañas, 2005). La pàlea és quasi transparent, una mica blanquinosa. Les lodícules són cordiformes i fan uns 0.3 mm de longitud (Giraldo-Cañas, 2005).

El fruit és un cariòpside el·líptic, de 2 a 3.5 mm de llarg per 1 mm d'ample, alternats en les branques de la inflorescència (Holm et al., 1977). Estan comprimits dorsoventralment. El seu escudet embrional fa la meitat de la longitud de la cariopsis (Giraldo Cañas, 2005).

1.6.3. Descripció fenològica de *Digitaria sanguinalis*

Tot i ser una planta anual, *Digitaria sanguinalis* té comportament perenne en alguns climes degut a la seva capacitat de desenvolupar arrels en els seus nusos quan troba un sòl humit. En el clima mediterrani la germinació s'inicia, aproximadament, a l'abril, i la floració a partir del juny (Marquès et al., 1983).

En el moment que la planta floreix es dona una aturada del creixement. Per aquest motiu, les plàntules que tarden més en florir hauran tingut un període major de creixement vegetatiu i, per tant, seran més competitives que la resta (Holm et al., 1977).

Se sap que en zones temperades les llavors presentaran una bona germinació quan hi ha alternança de temperatures, de 20 a 30 °C , i prou disponibilitat lumínica, o bé quan es dona una temperatura de 35°C constant (Holm et al., 1977). La planta de *Digitaria sanguinalis* es pot trobar més fàcilment en sòls arenosos o franco-llimosos, humits i rics en nitrogen (Häfliger i Basilea, 1972).

2. OBJECTIUS

L'ús intensiu i continu d'herbicides pot provocar l'aparició de resistències en les plantes de males herbes presents al camp. Des que s'han incorporat en els cicles de cultiu de la Regió Pampeana (Argentina) varietats de cultius resistents a l'herbicida glifosat, la producció s'ha basat en l'ús de la sembra directe, motiu pel qual s'empria de manera rutinària la matèria activa glifosat per al control de les males herbes.

La conjunció d'aquests factors ha motivat la realització d'aquest estudi, on es vol dur a terme un treball preliminar per determinar si han desenvolupat toleràncies al glifosat uns biotips de la mala herba amb importància mundial *Digitaria sanguinalis* (L.) Scop., procedents d'un camp de soja de la Regió Pampeana on s'hi fan aplicacions regulars de glifosat des de fa anys.

Per fer-ho, s'ha fet un estudi inicial de la germinació de *Digitaria sanguinalis*, i posteriorment s'han iniciat els assajos per determinar l'efecte de l'aplicació de diferents dosis de glifosat sobre *D. Sanguinalis*, segons l'estadi fenològic de la planta i la procedència de la llavor o biotip (Regió Pampeana i Vallès Oriental).

3. MATERIAL I MÈTODES

En l'estudi que es presenta s'han diferenciat dues grans parts. Una primera basada en la germinació de les plantes de *Digitaria sanguinalis* procedents de la Regió Pampeana de l'Argentina i de la finca de Torre Marimon a Caldes de Montbui.

La segona fase de l'estudi s'ha centrat en el control del desenvolupament de les plantes de *D. sanguinalis*, d'Argentina i de Caldes, després de fer tractaments amb l'herbicida Glifosat. Aquest control s'ha dut a terme amb les plantes en diferents fases de desenvolupament: llavors, a una fulla, a 2-3 fulles i a 3-4 fulles.

L'experiència es va desenvolupar entre els laboratoris d'Assecat Vegetal i de Biologia Vegetal de l'Escola Superior d'Agricultura de Barcelona del Campus del Baix Llobregat de la UPC, entre el juliol del 2007 i el juny del 2008.

3.1. Preparació i desinfecció de llavors de *Digitaria sanguinalis*

Es van seleccionar per a dur a terme l'estudi dues poblacions de *D. sanguinalis*, una que provenia dels camps experimentals de la Facultat de Agronomia de la Universidad de Buenos Aires, Argentina. En el moment de collir-les, que va ser l'abril de 2007, no hi havia instal·lat cap cultiu al camp; van arribar en bon estat a Castelldefels al juliol de 2007.

Les altres llavors eren de la finca de Torre Marimon, situada a Caldes de Montbui (Barcelona), collides el novembre de 2006. En ambdós casos les llavors provenien de més d'un centenar d'individus.

Un cop al laboratori, les plantes agafades a camp es van deixar assecat i, posteriorment, es van destriar manualment les llavors de la resta de la planta. Les llavors es van guardar en caixes petites de plàstic degudament etiquetades.

Per a la correcta sembra de les llavors de *D. sanguinalis*, primer de tot es va determinar el pes de llavors a sembrar a partir del nombre de plantes a estudiar, tenint en compte la relació coneguda que mil llavors de *D. sanguinalis* pesen 0,69 g (Gallart et al., en premsa), tant en llavors d'Argentina com en les de Caldes.

El següent pas va ser la neteja i desinfecció de les llavors. Per fer-ho es va preparar un tub d'assaig amb tap de rosca amb una solució d'hipoclorit sòdic (NaClO) al 5% on s'hi van col·locar les llavors. La mescla es va agitar manualment durant 10 minuts i, tot seguit, es col·locà un embut de Büchner de vidre amb placa porosa acoblat a un Kitasatos, on s'hi aplicà el buit. Amb l'ajut de 2l d'aigua destil·lada i fent el buit es retirà l'hipoclorit sòdic i altres partícules que haguessin pogut quedar amb les llavors.

3.2. Germinació de *Digitaria sanguinalis*

3.2.1. Sembrar de *Digitaria sanguinalis* pel control de la germinació

Es van preparar unes plaques de Petri esterilitzades de 9 cm de diàmetre amb paper de filtre a la base, també esterilitzat a la cambra de UV durant 5 minuts, per a la subjecció i germinació de les llavors. A cadascuna de les plaques s'hi van afegir 3ml d'aigua destil·lada, amb l'ajuda d'una pipeta automàtica, i posteriorment, s'hi van col·locar entre 20 i 25 llavors desinfectades de *D. sanguinalis*, repartides i distribuïdes uniformement per tota la superfície. Concretament, es van col·locar a les plaques 582 llavors d'Argentina i 713 de TM. L'experiència es va dur a terme entre el juliol i el setembre del 2007.

Les plaques es van posar a germinar a una cambra de germinació amb il·luminació, temperatures i humitats controlades. De les 9 a les 21 hores s'il·luminava la cambra i es pujava la temperatura fins a 30°C. De les 21 a les 9 hores era el període de foscor i la temperatura descendia fins als 20°C. La humitat es mantenia sempre al 85%.

3.2.2. Metodologia de control de germinació de *Digitaria sanguinalis*

La germinació de les llavors de *D. sanguinalis* es va controlar, anotant el nombre de plantes germinades per placa, diàriament a partir del dia de sembra. Es va considerar que una llavor ja estava germinada en el moment que, amb la lupa binocular, s'observava l'aparició de la punta de la radícula. Es va aprofitar el control esmentat per rehidratar les plaques amb aigua destil·lada. El control es va donar per finalitzat als 12 dies després de la sembra.

3.3. Aplicació de Glifosat sobre plantes de *Digitaria sanguinalis*

3.3.1. Sembra de *Digitaria sanguinalis* per tractaments amb Glifosat

3.3.1.1. Sembra en placa per a tractaments en estadi de llavor i una fulla

Per a sembrar aquestes llavors es va seguir el mateix procediment que en la sembra en placa definida anteriorment (Veure apartat 3.2.1). Per a tractament sobre llavors es van posar a germinar 210 llavors tant d'Argentina com de Torre Marimon (TM a partir d'ara), amb una distribució de 15 llavors per placa. Per a tractament a una fulla es van col·locar 191 plàntules d'Argentina i 211 de TM, distribuïdes aproximadament amb 10 plàntules per placa. Posteriorment les plaques es van posar a la cambra en les condicions d'il·luminació i temperatura que s'han explicat anteriorment (Veure apartat 3.2.1).

Cada placa es va identificar amb la procedència de la llavor (Argentina o TM), la data de plantació, l'estadi en el que s'havia tractat (0F o 1F) i un número de la placa, per facilitar-ne el seguiment.

3.3.1.2. Sembra en safata per a tractaments en estadi 2-3 fulles i 3-4 fulles, i per avaluar variacions de la biomassa

Es van emprar 32 safates rectangulars de plàstic dur com a contenidor per a dur a terme aquesta fase de l'estudi. Es va comptar amb quatre mides de safates diferents, tenint una superfície de 464 cm², 600 cm², 735 cm² i 756 cm², que es van tenir en compte per fer els càlculs de la dosi a aplicar.

Com a substrat de creixement es va utilitzar Substrat Universal de Jardiland, format per una barreja de torbes d'espagnum i càrex, escorça de pi i perlita. Té un 60% de matèria orgànica i un pH del 6,3. Es va humectar el substrat amb aigua destil·lada i es va col·locar a les safates. Les llavors de *D. sanguinalis* ja desinfectades es van anar disposant a sobre la terra, distribuïdes uniformement per tota la safata.

Taula 3.1. Composició del Substrat Universal Jardiland.

Matèria seca/peso de producte brut	30%
Matèria orgànica/peso de producte brut	60%
pH aigua	6.3
Conductivitat	41 mS/m
Retenció aigua/volum	65%
NPK	19-13-3

Les safates es van posar a una cambra de germinació amb il·luminació, temperatures i humitats controlades, amb les mateixes condicions que les utilitzades per al control de la germinació de *D. sanguinalis* (Veure apartat 3.2.1.)

Cada safata es va identificar amb la procedència de la llavor (Argentina o Torre Marimon) i un número de safata, per facilitar-ne el seguiment. A part, es van fer uns esquemes on, abans de començar els controls, s'hi va marcar la situació de cada plàntula i se li va assignar un número a cadascuna d'elles.

3.3.2. Dosis d'aplicació de Glifosat

Per a les aplicacions herbicides d'aquest estudi es va emprar glifosat al 36% (Roundup, Monsanto S.A.). Les dosis d'aplicació es van establir a partir de la dosi recomanada per Monsanto S.A. a la mateixa etiqueta del producte, que d'ara en endavant anomenarem x, on es diu que per a herbes anuals de fulla estreta, quan es vagi a ruixar amb un pulveritzador amb una pressió inferior a 2.5 kg/cm², les dosis a aplicar és de 5 ml de Roundup Plus per 1 l de solució amb aigua destil·lada (caldo). També especifiquen que això per una hectàrea correspon a 500 l de caldo.

A partir d'aquí es van prefixar unes dosis de tractament que van ser de 1/4x, 1/2x, 3/4x, x, 2x, 4x, 8x i 16x, tot i que no sempre en totes les tongades de plantacions es va treballar amb totes les dosis descrites.

Taula 3.2. Dosi d'aplicació de glifosat segons la nomenclatura establerta (m.a. = matèria activa).

Nomenclatura	Dosi de Roundup (l/ha)	Dosi de glifosat (g m.a./ha)
0	0	0
1/4x	0,625	225
1/2x	1,25	450
3/4x	1,875	675
X	2,5	900
2x	5	1800
4x	10	3600
8x	20	7200
16x	40	14400

La preparació de les dosis d'aplicació es va dur a terme fent el càlcul de la solució que es necessitava per a la dosi més elevada, en aquest cas 16x (Eq.1), i a partir d'aquest caldo es van anar fent dilucions a la meitat per anar obtenint les altres dosis que es requerien, excepte en la concentració 3/4x, en què es va haver de fer de nou diluint 3.75 ml de Glifosat en 1 l de caldo.

$$\text{Dosi d'aplicació}_{16x} = 16 \cdot \frac{5 \text{ ml RoundUp (recomenat)}}{1 \text{ l caldo}} = 80 \text{ ml RoundUp/l} \quad (\text{Eq. 1})$$

A part, es va fer el Control que es va dur a terme fent un caldo només amb aigua destil·lada i aplicant sobre la safata el volum de caldo especificada a l'etiqueta, que seria igual que en les altres dosis d'aplicació.

El volum de caldo a aplicar venia determinat per la superfície de les safates o les plaques a tractar, seguint el càlcul expressat a l'Eq. 2, posant com exemple l'aplicació en placa.

$$\frac{500 \text{ l de caldo}}{1 \text{ ha}} \cdot \frac{1 \text{ ha}}{10000 \text{ m}^2} \cdot \frac{0.00636 \text{ m}^2}{1 \text{ placa}} \cdot \frac{1000 \text{ ml}}{1 \text{ l}} = 0.318 \text{ ml caldo/placa} \quad (\text{Eq. 2})$$

Taula 3.3. Volum a aplicar de caldo d'herbicida expressat en ml segons la superfície dels diferents contenidors amb els que es va treballar en l'estudi.

Tipus de contenidor	Superfície (cm ²)	Volum de caldo a aplicar (ml)
Placa de Petri	63.6	0.318
Safata ₁	464	2.32
Safata ₂	600	3
Safata ₃	735	3.675
Safata ₄	756	3.78

3.3.3. Preparació i metodologia d'aplicació de Glifosat

3.3.3.1. Sobre llavors de *Digitaria sanguinalis*

Es van preparar les plaques de Petri humectant el paper de filtre amb 3ml del caldo d'herbicida a les diferents concentracions que hi pertocaven. Es va decidir fer-ho així, ja que si s'aplicaven 0.318 ml de caldo, tal com sortien el càlculs, s'hauria d'haver afegit aigua destil·lada per a que les llavors poguessin germinar, d'aquesta manera es diluïa la dosi d'aplicació i per tant, aquesta seria errònia.

Es van aplicar solucions de Glifosat de 1/4x, 1/2x, 3/4x, x, 2x i 4x, cadascuna correspon 2 plaques de Petri amb 15 llavors cadascuna. A part, es va fer el mateix amb dues plaques control, on s'hi van posar només 3 ml d'aigua destil·lada.

La sembra i tractament de *D. sanguinalis* en estadi de llavor es van dur a terme el 6 de març del 2008.

3.3.3.2. Sobre *Digitaria sanguinalis* a una fulla

La sembra de les llavors de *D. sanguinalis* per a tractament a una fulla de desenvolupament es va dur a terme el 29 de febrer del 2008. Una setmana més tard, concretament el 6 de març del 2008, ja s'observaven la majoria de les plàntules a estadi 1 fulla i es va procedir a fer el tractament amb Glifosat.

Es van aplicar solucions de RoundUp de 1/4x, 1/2x, 3/4x, x, 2x i 4x, cadascuna correspon 3 plaques de Petri amb aproximadament 10 llavors cadascuna. A part, es va fer el mateix amb tres plaques control, on s'hi va ruixar els 0.32 ml de caldo d'aigua destil·lada.

Els tractaments es van dur a terme amb un polvoritzador d'una capacitat de 600 ml. Per saber exactament que el volum de caldo que s'aplicava era el que es volia, abans d'iniciar els tractaments es van fer proves sobre paper de filtre. Es va pesar el paper sec, s'hi va ruixar l'aigua i tot seguit es va tornar a pesar. La diferència de pes es va passar a mil·lilitres coneixent la densitat de l'aigua, i així es sabia el volum d'aigua que s'havia aplicat.

3.3.3.3. Sobre *Digitaria sanguinalis* a estadi fenològic 2-3 fulles, 3-4 fulles i per valorar variacions en la biomassa

El glifosat es va aplicar sobre les plantes de *D. sanguinalis* amb l'ajut d'un polvoritzador amb una capacitat de 600 ml. Per saber exactament que el volum de caldo que s'aplicava era el que es volia, es van fer les proves descrites a l'apartat anterior (Apartat 3.3.3.2).

3.3.3.3.1. Estadi fenològic 2-3 fulles

Les llavors van ser posades a germinar el 17 de març del 2008 i tractades el 8 d'abril del 2008, quan ja tenien entre 2 i 3 fulles. Es van aplicar solucions de RoundUp de 1/2x, 3/4x, x, 2x, 4x, 8x, cadascuna correspon a una safata. Per les plàntules d'Argentina es van emprar 7 safates que corresponen a les 7 solucions diferents d'herbicida aplicades, igual es va fer amb les plàntules de Caldes de Montbui.

Taula 3.4. Detall de dosi d'aplicació i el nombre de plantes de cada safata de plàntules d'Argentina i de plàntules de Caldes.

Número de safata		Plàntules d'Argentina	Plàntules de Caldes
1	Dosi	control	control
	nº plantes	49	46
2	Dosi	1/2x	1/2x
	nº plantes	47	46
3	Dosi	3/4x	3/4x
	nº plantes	47	46
4	Dosi	X	x
	nº plantes	54	45
5	Dosi	2x	2x
	nº plantes	48	45
6	Dosi	4x	4x
	nº plantes	47	45
7	Dosi	8x	8x
	nº plantes	47	45

3.3.3.3.2. Estadi fenològic 3-4 fulles

Les llavors van ser posades a germinar el 28 de gener del 2008 i tractades el 6 de març del 2008, quan tenien entre 3 i 4 fulles. Es van aplicar solucions de Round Up de 1/4x, 1/2x, x, 2x, 4x, 8x, 16x. Per les plàntules d'Argentina es van emprar 8 safates que corresponen a les 8 solucions diferents d'herbicida aplicades, el mateix es va fer amb les plàntules de Caldes de Montbui.

Taula 3.5. Detall de dosi d'aplicació i el nombre de plantes de cada safata de plàntules d'Argentina i de plàntules de Caldes.

Número de safata		Plàntules d'Argentina	Plàntules de Caldes
1	Dosi	1/4x	1/4x
	nº plantes	38	54
2	Dosi	1/2x	1/2x
	nº plantes	44	55
3	Dosi	x	x
	nº plantes	42	55
4	Dosi	2x	2x
	nº plantes	59	55
5	Dosi	4x	4x
	nº plantes	54	54
6	Dosi	8x	8x
	nº plantes	59	54
7	Dosi	16x	16x
	nº plantes	54	56
8	Dosi	control	control
	nº plantes	55	57

3.3.3.3. Valoració de les variacions en la biomassa

Les llavors van ser posades a germinar el 30 d'abril del 2008 i es van tractar amb glifosat el dia 22 de maig del 2008, quan tenien entre 2 i 3 fulles. Totes les safates tenien en el moment de ruixar 53 o 54 plàntules.

Es van aplicar solucions d'herbicida de 1/2x, 3/4x i x. Per les plàntules d'Argentina es van emprar 8 safates, corresponents a dues plaques per cada tractament, comptant també les safates control. El mateix es va fer amb les plàntules de Caldes de Montbui.

3.3.4. Metodologia de control del desenvolupament de *Digitaria sanguinalis* després de tractament amb glifosat

Les llavors tractades amb glifosat es van controlar diàriament durant vuit dies, des del dia següent al tractament fins al 14 de març del 2008. A part, es va fer un altre comptatge el dia 17 de març del 2008. El control es va basar en determinar visualment el nombre de llavors germinades de cada placa.

Les plàntules tractades a estadi d'una fulla es van controlar diàriament durant tretze dies, des del dia següent al tractament fins al 19 de març del 2008. El control es va basar en determinar visualment el nombre de plàntules mortes de cada placa.

A les plantes tractades en estadi de 2-3 fulles i les de 3-4 fulles se'ls hi van fer diferents controls. El dia de tractament es van comptar les fulles de cadascuna de les plàntules, i es va fer el mateix als 10 i 20 dies d'haver aplicat el glifosat.

3.3.5. Metodologia de control de la biomassa de *Digitaria sanguinalis* després de tractament amb glifosat

A les plantes tractades per a determinar la biomassa es va dur un control del nombre de fulles en el mateix dia que se'ls hi va fer el tractament, als 10 i als 20 dies després de tractament. Als 10 dies es van posar a l'estufa, fins a obtenir-ne pes sec, les plantes vives d'una de les safates de cada dosi de tractament i procedència. Als 20 dies es va fer el mateix amb la safata restant de cadascun dels grups de tractament.

Es van desenvolupar alhora tasques de seguiment de l'estat hídric de plaques i safates. La cambra de germinació es visitava entre 2 i 3 cops per setmana, quan s'observava que faltava aigua en alguna placa o safata, se n'hi afegia.

3.4. Variables obtingudes

S'han obtingut les següents variables:

- Percentatge de germinació (G= nombre de llavors de *D. sanguinalis* germinades, T= nombre total de llavors de *D. sanguinalis* posades a germinar).

$$\% G = \frac{G}{T} \cdot 100 \quad (\text{Eq. 3})$$

- Percentatge de mortalitat (%M) i supervivència (%S) (M= nombre de plantes de *D. sanguinalis* mortes, T= nombre total de plantes de *D. sanguinalis* plantades).

$$\% M = \frac{M}{T} \cdot 100 \quad (\text{Eq. 4})$$

$$\% S = 100 - \% M \quad (\text{Eq. 5})$$

- Variació en el nombre de fulles fins als 10 DDT ($\Delta D10$) i als 20 DDT ($\Delta D20$) ($D10$ = nombre de fulles als 10 DDT, $D20$ = nombre de fulles als 20 DDT, $D0$ = nombre de fulles el dia de tractament)

$$\Delta D10 = \frac{D10 - D0}{D0} \quad (\text{Eq. 6})$$

$$\Delta D20 = \frac{D20 - D0}{D0} \quad (\text{Eq. 7})$$

- Factor de resistència (FR). Es tracta d'un índex que es calcula per comparar el grau de resistència entre diferents poblacions (Moss, 1999). Es considera que hi ha un alt nivell de resistència quan $FR > 10$. En canvi, també existeix l'anomenat baix nivell de resistència, més difícil de definir i en alguns casos subjectiu (Heap, 2005), ja que és confosa la definició de resistència tenint en compte el que constitueix la variació natural de les poblacions i el que pot ser una resistència de nivell baix.

$$FR = \frac{DR50 \text{ població resistent}}{DR50 \text{ població susceptible}} \quad (\text{Eq. 8})$$

Els càlculs de %G, %M, %S, $\Delta D10$, $\Delta D20$ i FR, i els gràfics presentats en aquest treball s'han desenvolupat amb l'ajuda del programa Microsoft Excel de Microsoft Office XP Professional amb FrontPage.

3.5. Tractament de les dades

3.5.1. Anàlisi de la variància i separació de mitjanes

S'ha seguit un disseny de blocs a l'atzar, considerant com a factors de variació el tractament amb glifosat i la procedència de la llavor.

Per a valorar les variacions de les variables esmentades en funció del tractament aplicat, la procedència de la llavor i l'estadi fenològic, s'ha dut a terme un anàlisi de la variància. El tractament estadístic s'ha realitzat amb el paquet informàtic estadístic SAS/STAT (SAS Institute, 1992). S'ha emprat el procediment *GLM* per analitzar la variància. Això s'ha complimentat amb el test de separació de mitjanes de Tukey. Per aquests tractaments estadístic les dades en forma de percentatge (tant per cent i tant per u) analitzades van ser transformades a arcsinus de la variable en tant per u.

A partir de l'anàlisi de la variància s'ha obtingut el valor de *F*, amb la probabilitat de cada factor o combinació de factors, en tots el paràmetres definits.

El test de Tukey s'ha utilitzat per conèixer les diferències significatives entre mitjanes, prenent com a límit una probabilitat inferior a 0,05.

3.5.2. Corbes dosi-resposta

Diferents experiències han demostrat que quan les plantes es tracten amb herbicides els efectes observats queden descrits raonablement bé amb corbes logístiques de dosi-resposta (Streibig, 2003). Les corbes estàndards de dosi-resposta es defineixen per quatre paràmetres:

- D Límit superior de la resposta de la planta.
- C Límit inferior de la resposta de la planta.
- ED₅₀ Dosi necessària per arribar a la resposta mitja entre el límit superior i l'inferior.
- B Pendent de la corba en el punt de ED₅₀.

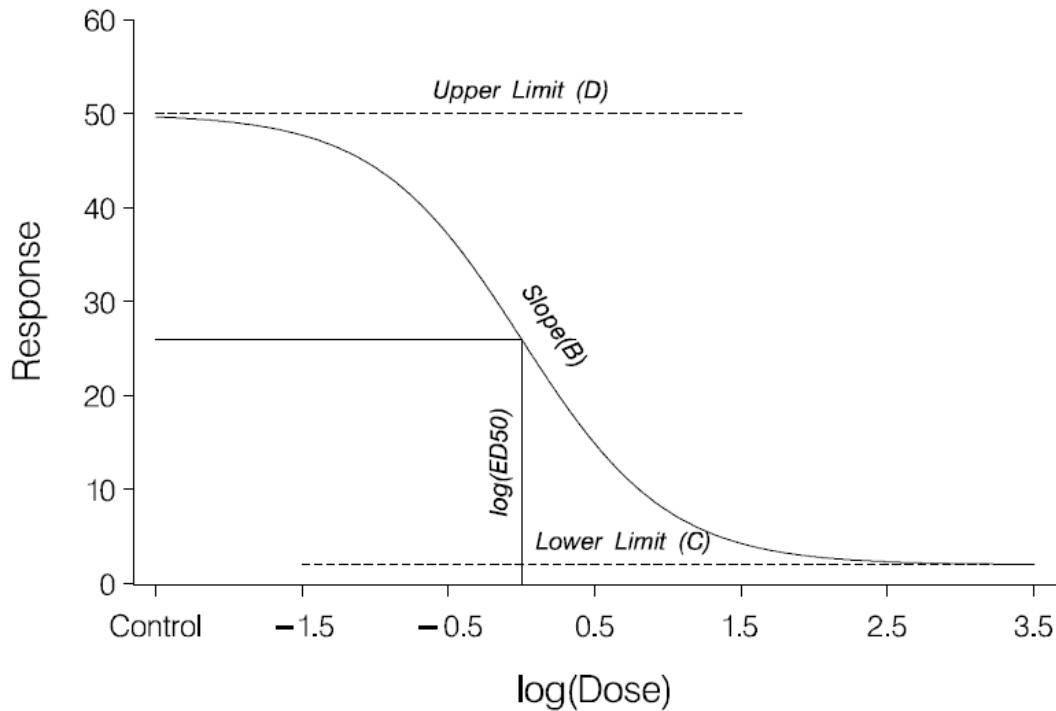


Figura 3.1. Corba de dosi-resposta log-logística, on els paràmetres són: $D=50$, $C=2$, $ED_{50}=1$, $B=2$ (Font: Streibig, 2003).

Les corbes logístiques de dosi-resposta es poden expressar seguint la següent funció (Streibig et al., 1993):

$$y = C + \frac{D - C}{1 + \left(\frac{z}{ED_{50}} \right)^B} \quad (\text{Eq. 9})$$

O bé, utilitzant el logaritme de la dosi, passant-se a anomenar corba dosi-resposta log-logarítmica:

$$y = C + \frac{D - C}{1 + \exp(B \cdot (\ln(z) - \ln(ED_{50})))} \quad (\text{Eq. 10})$$

On y correspon a la resposta de la planta (ex.: %mortalitat) i z a la dosi de l'herbicida.

Mitjançant el paquet informàtic estadístic SAS i el seu procediment NLIN (regressió no lineal), s'ha fet una regressió de les variables analitzades anteriorment (veure Apartat 3.4.) que ens permetrà conèixer els valors dels paràmetres de la corba. D'aquesta manera es disposarà del valors dels paràmetres per als tractaments, segons la fase de desenvolupament en què s'han tractat i la procedència de la llavor.

4. RESULTATS

4.1. Avaluació de la germinació de llavors de *Digitaria sanguinalis*

A continuació es detallen els paràmetres que fan referència a la germinació acumulada de llavors de *D. sanguinalis* procedents tant d'Argentina com de Torre Marimon. Es donen dades de tres experiments en què es va controlar la germinació (P1, P2 i P3).

Taula 4.1. Germinació de llavors de *D. sanguinalis*, segons la data de sembra i la procedència. Es presenta també el percentatge de germinació pels dies 4 i 8 des que es posen a germinar (DDS= dies després de la sembra).

Prova	Procedència	Nº de llavors sembrades	% germinació 4 DDS	% germinació 8 DDS
P1	Arg	200	47.5	71.5
	TM	403	52.85	96.77
P2	Arg	382	76.70	81.68
	TM	310	67.42	89.68
P3	Arg	30	73.33	90
	TM	30	46.67	96.67

A partir de les dades presentades a la Taula 4.1. es veu que les llavors procedents de la Pampa tenen un percentatge de germinació menor que les de Torre Marimon, vuit dies després d'haver-les posat a germinar. En aquest interval de temps, les llavors de *D. sanguinalis* procedents de la regió Pampeana de l'Argentina presenten un percentatge de germinació d'entre el 71.5 i el 90%. En el cas de les de Torre Marimon, aquest percentatge va des de 89.68 a 96.77.

En fer una regressió no lineal de cadascuna de les proves i procedències realitzades s'han obtingut els valors estimats de les variables dependent i independent que s'expressen en la Taula 4.2.

Taula 4.2. Paràmetres estimats de regressió no lineal de les dades de germinació de *D. sanguinalis* (Arg= Argentina, TM=Torre Marimon, y= variable dependent, x= variable independent, DDS = dies després de la sembra, R^2 = coeficient de regressió).

Prova		Variable	Paràmetre estimat	Valor t	Probabilitat	R^2
P1	Arg	% germinació (y)	-0.26719	-3.79	0.0090	0.9743
		DDS (x)	0.21881	7.37	0.0003	
		DDS ² (x ²)	-0.01126	-4.61	0.0037	
	TM	% germinació (y)	-0.43240	-3.92	0.0078	0.9791
		DDS (x)	0.30641	6.59	0.0006	
		DDS ² (x ²)	-0.01299	-3.39	0.0146	
P2	Arg	% germinació (y)	-0.29004	-2.01	0.0905	0.9201
		DDS (x)	0.32653	5.38	0.0017	
		DDS ² (x ²)	-0.02005	-4.01	0.0070	
	TM	% germinació (y)	-0.32258	-6.78	0.0005	0.9934
		DDS (x)	0.31792	15.86	<.0001	
		DDS ² (x ²)	-0.01728	-10.47	<.0001	
P3	Arg	% germinació (y)	-0.49820	-4.24	0.0081	0.9756
		DDS (x)	0.45805	7.65	0.0006	
		DDS ² (x ²)	-0.03177	-4.89	0.0045	
	TM	% germinació (y)	-0.50393	-3.47	0.0179	0.9721
		DDS (x)	0.41997	5.66	0.0024	
		DDS ² (x ²)	-0.02368	-2.95	0.0321	

En fer l'anàlisi de la significació de les dades mitjançant el Test de Tukey (Taula 4.3.), s'obté que per un interval de confiança del 95% la germinació acumulada de llavors de *D. sanguinalis* no presenten diferències significatives en relació a la procedència de la llavor (TM o Arg), tant als 4 com als 8 DDS.

Taula 4.3. Separació de mitjanes (Test Tukey) de germinació acumulada als 4 i 8 DDS (expressada en tant per u). Els valors de mitjana amb diferent lletra són significativament diferents a una P=0.05.

Procedència	Mitjana 4 DDS	Mitjana 8 DDS
TM	0.71a	0.95a
Arg	0.67a	0.77a

4.2. Avaluació del percentatge de germinació després de fer un tractament sobre llavors de *Digitaria sanguinalis*

Es volia determinar el grau d'afectació que pot generar el glifosat si s'aplica quan *D. sanguinalis* es troba en estat de llavor. En principi, en aquests tractaments no s'esperaria que el glifosat provoqui grans canvis en la resposta germinativa de la planta, ja que aquest herbicida és d'acció sistèmica. Per tant, com que les plantes l'absorbeixen per les fulles, no s'esperarien diferències en el percentatge de germinació de llavors tractades i control.

Taula 4.4. Germinació (nº total) de llavors de *D. sanguinalis* sotmeses a diferents dosis de glifosat, en els 8 dies següents a la col·locació en plaques. x = dosi recomanada (veure material i mètodes). Procedència (Arg = Argentina, TM Torre Marimon).

Procedència	Dosi	nº llavors/ 2 plaques	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8
Arg	0	30	0	7	14	22	27	27	27	27
Arg	0,25x	30	0	4	18	26	26	26	27	27
Arg	0,5x	30	0	1	12	22	23	23	23	23
Arg	0,75x	30	0	5	16	20	24	24	24	24
Arg	X	30	0	4	17	23	23	23	23	23
Arg	2x	30	0	2	8	15	18	18	18	18
Arg	4x	30	0	0	0	7	15	16	16	16
TM	0	30	0	2	15	23	26	27	29	29
TM	0,25x	30	0	3	13	22	25	26	27	27
TM	0,5x	30	0	1	18	21	24	24	24	24
TM	0,75x	30	0	0	16	24	25	25	26	27
TM	X	30	0	0	17	22	26	26	26	26
TM	2x	30	0	2	11	20	23	24	24	24
TM	4x	30	0	0	2	10	15	19	19	19

Les llavors de *D. sanguinalis*, tant d'Argentina com de Torre Marimon, comencen a germinar a partir de les 30h d'estar a la cambra de germinació. A partir d'aquí presenten un creixement exponencial fins al voltant de les 120 hores (5 dies). Quan se'ls hi ha aplicat qualsevol de les dosis de glifosat el comportament, en la majoria dels casos, en percentatge de germinació és molt similar.

En les plantes d'Argentina, al cap de 8 dies d'haver ruixat, tots els tractaments en que s'ha aplicat glifosat tenen una menor germinació. Aquesta es veu encara més accentuada en els tractaments 2x i 4x. El temps que triguen en començar la germinació és molt similar en totes les dosis, excepte en la dosi 4x de glifosat sobre plantes Argentines. En aquest cas, les llavors van estar 72 hores fins a iniciar la germinació.

En llavors de Torre Marimon, la germinació dels diferents tractaments presenta una evolució de la germinació molt similar entre ells, exceptuant el grup de tractament 4x que es distancia de la resta amb claredat als vuit dies de l'aplicació de glifosat. Aquesta mateixa dosi, juntament amb la recomanada (x), inicien la germinació un dia més tard que la resta de tractaments.

Segons l'anàlisi de la variància de les dades dels 4 DDS i 8 DDS, la resposta en la germinació de les llavors després de l'aplicació del glifosat sí que presenta diferències significatives segons la dosi, no n'hi ha segons la procedència de les llavors ni segons la interacció entre procedència i dosi. La significació es detalla a les Taules 4.6 i 4.7.

Taula 4.5. Anàlisi de la variància de la germinació acumulada als 4 i 8 DDS, considerant com a fonts de variació la procedència de la llavor, la dosi de tractament i la interacció entre aquestes dues. Anàlisi fet amb les dades transformades amb (arcsinus de la variable en tant per u).

	Font de variació	Valor F	Probabilitat
4 DDS	Procedència	0.27	0.6116
	Dosi	5.43	0.0044
	Interacció	0.58	0.7381
8 DDS	Procedència	5.03	0.0417
	Dosi	3.82	0.0181
	Interacció	0.28	0.9365

Taula 4.6. Separació de mitjanes segons la procedència de la llavor de *D. sanguinalis* (Test Tukey) de la germinació acumulada als 4 i 8 DDS. Els valors de mitjana amb diferent lletra són significativament diferents a una $P=0.05$.

Procedència	Mitjana 4 DDS	Mitjana 8 DDS
TM	0.70 a	0.87 a
Arg	0.67 a	0.77 b

Taula 4.7. Separació de mitjanes segons el tractament sobre llavors de *D. sanguinalis* (Test Tukey) de la germinació acumulada als 4 i 8 DDS. Els valors de mitjana amb diferent lletra són significativament diferents a una $P=0.05$.

Dosi	Mitjana 4 DDS	Mitjana 8 DDS
Control	0.75 a	0.95 a
0.25x	0.82 a	0.90 b
0.5x	0.72 a	0.80 b
0.75x	0.74 a	0.85 ab
x	0.76 a	0.86 ab
2x	0.58 ab	0.71 ab
4x	0.29 b	0.59 b

Com ja s'ha dit, la resposta en la germinació de les llavors segons el tractament presenta diferències significatives, encara que aquestes no són gaire importants.

Als quatre dies d'haver posat a germinar i tractat les llavors de *D. sanguinalis*, els tractaments control, 1/4x, 1/2x, 3/4x, x i 2x presenten un percentatge de germinació sense diferències significatives entre ells. Passa el mateix amb els tractaments 2x i 4x.

Si s'analitza la significació als vuit dies d'haver posat a germinar i tractat les llavors de *D. sanguinalis*, tots els tractaments presenten un percentatge de

germinació sense diferències significatives entre ells, tot i que sí que hi ha lleugeres divergències entre el control i 4x ($P=0.0181$).

Aquestes petites diferències que s'obtenen en el percentatge de germinació de les plantes segons la dosi de tractament es poden explicar per l'efecte que té sobre les plantes ja germinades el glifosat residual que queda a les plaques de Petri, que entra en contacte amb les fulles quan comencen a sortir i la planta encara no ha agafat alçada.

4.2.1. Corbes dosi-resposta

Tal com es mostra a la Figura 4.1, quan es fa un tractament amb glifosat sobre *D. sanguinalis* en estadi llavor, s'observa que hi ha diferències segons la procedència, tal com s'ha obtingut de l'anàlisi de la variància fet anteriorment (Taula 4.5). Tot i això, les dues funcions de regressió que es presenten són molt semblants.

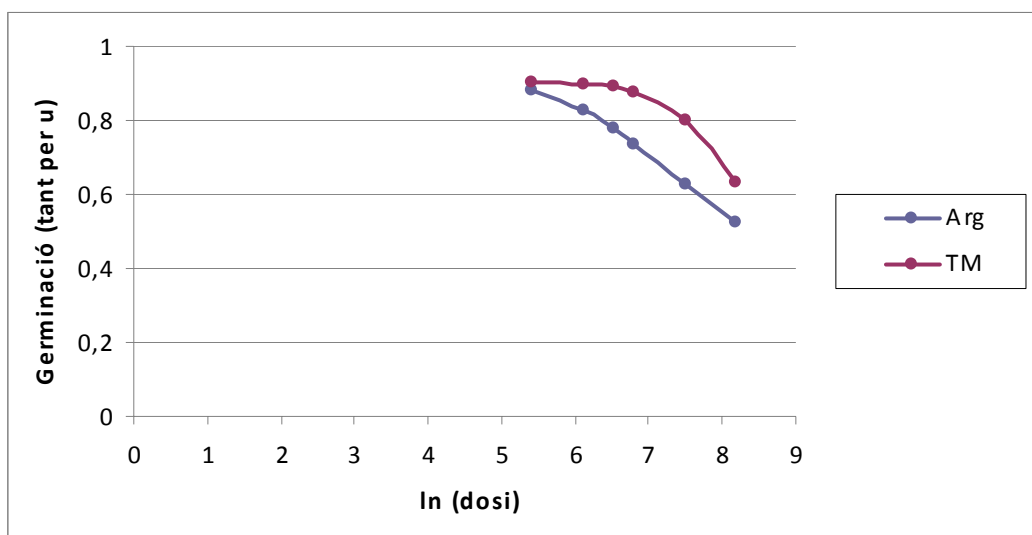


Figura 4.1. Corba dosi- resposta log-logarítmica del percentatge de germinació de llavors d'Argentina i Torre Marimon als 8 DDS.

Arg: % germinació = $0.36 + ((0.94 - 0.36) / (1 + \exp(1.13 \cdot (\ln(\text{dosi}) - \ln(1534.2))))$

TM: % germinació = $0.43 + ((0.90 - 0.43) / (1 + \exp(2.26 \cdot (\ln(\text{dosi}) - \ln(3146.4))))$

4.3. Avaluació de la mortalitat en plàntules en estadi una fulla de *Digitaria sanguinalis* després de tractar-les amb glifosat

S'ha aplicat glifosat en plàntules de *Digitaria sanguinalis* que s'havien fet germinar a cambra i que es trobaven en estadi de desenvolupament d'una fulla.

Taula 4.8. Mortalitat (nº total) de plàntules de *D. sanguinalis* sotmeses a diferents dosis de glifosat, en els 13 dies següents al tractament. x = dosi recomanada (veure material i mètodes). Procedència (Arg = Argentina, TM Torre Marimon).

Procedència	dosi	nº llavors/ 3 plaques	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9	D10	D11	D12	D13
Arg	0	29	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1
Arg	0,25x	27	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1
Arg	0,5x	27	0	0	0	0	3	3	5	6	6	7	7	8	4
Arg	0,75x	27	0	0	0	0	2	4	4	4	6	7	8	9	7
Arg	x	27	0	0	0	2	7	9	10	11	14	16	16	17	17
Arg	2x	27	0	0	0	5	12	12	14	16	17	18	20	20	23
Arg	4x	27	0	0	0	1	13	16	20	22	24	26	26	27	27
TM	0	30	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
TM	0,25x	30	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	4	5	5
TM	0,5x	30	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	5	6
TM	0,75x	30	0	0	0	0	0	0	0	2	2	4	6	6	7
TM	x	30	0	0	0	0	0	0	0	2	2	3	7	11	12
TM	2x	31	0	0	0	1	4	6	6	7	10	13	14	17	19
TM	4x	30	0	0	0	1	5	5	8	12	17	28	29	30	30

Quan es fan tractaments sobre plàntules en estadi a una fulla es poden apreciar diferències: als tretze dies d'haver fet el tractament la mortalitat va en concordança amb la dosi de tractament. Així, el grup control és el que presenta menys mortalitat (3% en plantes Arg i 0% en plantes TM) i el grup 4x és el que en presenta més (90% en plantes Arg i 100% en plantes TM).

També es pot veure que en tractaments superiors al recomanat (amb aquest inclòs) en plàntules d'Argentina, la mortalitat apareix a les 72 hores d'haver ruixat, i un dia més tard ja s'hi sumen plàntules dels tractaments 3/4x i 1/2x. En canvi, en plantes de Torre Marimon a les 72 hores també apareixen les

primeres mortes dels tractaments 2x i 4x, però després fins al dia 8 (192 hores) després de tractament els altres tractaments no comencen a tenir plàntules mortes.

Taula 4.9. Anàlisi de la variància de la germinació acumulada als 4, 8 i 13 DDS, considerant com a fonts de variació la procedència de la llavor, la dosi de tractament i la interacció entre aquestes dues. Anàlisi fet amb les dades transformades (arcsinus de la variable en tant per u).

	Font de variació	Valor F	Probabilitat
4 DDS	Procedència	8.35	0.0074
	Dosi	7.27	<.0001
	Interacció	3.89	0.0060
8 DDS	Procedència	19.59	0.0001
	Dosi	13.13	<.0001
	Interacció	2.66	0.0359
13 DDS	Procedència	2.58	0.1196
	Dosi	57.09	<.0001
	Interacció	1.97	0.1043

Taula 4.10. Separació de mitjanes de la germinació (tant per u) segons la procedència de les llavors de *D. sanguinalis* (Test Tukey) tractades a estadi fenològic 1 fulla. Els valors de mitjana amb diferent lletra són significativament diferents a una $P=0.05$.

Procedència	Mitjana 4 DDT	Mitjana 8 DDT	Mitjana 13 DDT
TM	0.01 b	0.11 b	0.45 a
Arg	0.04 a	0.35 a	0.53 a

Taula 4.11. Separació de mitjanes de la germinació (tant per u) segons el tractament aplicat a plantes de *D. sanguinalis* (Test Tukey) tractades a estadi fenològic 1 fulla. Els valors de mitjana amb diferent lletra són significativament diferents a una $P=0.05$.

Dosi	Mitjana 4 DDT	Mitjana 8 DDT	Mitjana 13 DDT
Control	0.00 b	0.00 c	0.02 d
0.25x	0.00 b	0.00 c	0.10 d
0.5x	0.00 b	0.11 bc	0.18 d
0.75x	0.00 b	0.11 bc	0.25 cd

x	0.04 b	0.25 bc	0.54 bc
2x	0.11 a	0.42 ab	0.78 b
4x	0.04 b	0.67 a	1.00 a

Segons els resultats obtinguts després d'haver fet l'anàlisi de la variància mitjançant el test de Tukey, es pot afirmar amb una confiança del 95%, que als quatre i vuit dies després de tractament la resposta en la mortalitat segons la procedència de la llavor sí que presenta diferències significatives. En canvi, als 13 dies la mortalitat segons la procedència no és diferent (Taules 4.9 i 4.10).

La dosi d'aplicació és un efecte significatiu en els tres dies avaluats (4, 8 i 13 DDT). Segons els resultats obtinguts (Taula 4.11), als 4 dies després de sembra només les tractades a dosi 2x són diferents a la resta. Als 8 DDT el tractament 4x és diferent a la resta, excepte a 2x. Alhora, 2x presenta diferències el tractament control i 0.25x.

Als 13 DDT el tractament 4x és significativament diferent a la resta. Igualment succeeix amb 2x, tot i que aquest tractament no presenta diferències amb x. Els grups control, 1/4x i 1/2x presenten una resposta significativament diferent a la resta, excepte amb el tractament 0.75x.

4.3.1. Corba dosi-resposta

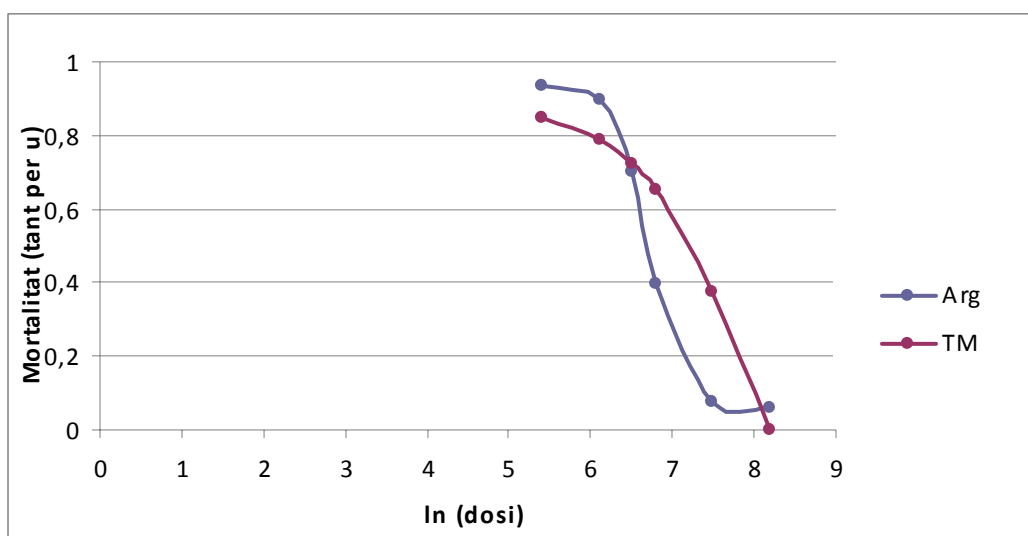


Figura 4.2. Corba dosi- resposta log-logarítmica del percentatge de mortalitat de plàntules de llavors d'Argentina i Torre Marimon tractades amb glifosat en estadi 1 fulla als 13 DDT.

Arg: % mortalitat = $0.06 + ((0.94 - 0.06) / (1 + \exp(5.13 \cdot (\ln(\text{dosi}) - \ln(821.7))))$

TM: % mortalitat = $-0.59 + ((0.88 + 0.59) / (1 + \exp(1.51 \cdot (\ln(\text{dosi}) - \ln(2759.9))))$

Tal com es mostra a la Figura 4.2, quan es fa un tractament amb glifosat sobre *D. sanguinalis* en estadi 1 fulla, s'observa que no hi ha diferències segons la procedència, tal com s'ha obtingut de l'anàlisi de la variància fet anteriorment (Taula 4.9). Les dues funcions de regressió s'entrecreuen a una dosi al voltant de 900 g m.a./ha i 3600 g m.a./ha, en dosis entre aquests dos valors les plantes d'Argentina presenta menys mortalitat que les de Torre Marimon.

4.4. Avaluació de l'efecte de l'aplicació de diferents dosis de glifosat sobre plantes de *Digitaria sanguinalis* a estadi 2-3 fulles

Hi ha hagut dues poblacions de plantes de *D. sanguinalis* a les que se'ls hi ha fet tractament amb glifosat en estadi 2-3 fulles:

2-3Fa. Sembra al 17 de març i tractament al 8 d'abril del 2008 (Apartat 3.3.3.3).

2-3Fb. Plantació per estudiar les variacions en la biomassa de *D. sanguinalis* després de tractament amb glifosat. Sembra al 30 d'abril del 2008 i tractament al 22 de maig del 2008.

En els dos casos se'ls ha fet un control del nombre de fulles i de la mortalitat al dia de tractament, i als 10 i 20 DDT. Excepcionalment, es va controlar el nombre de fulles en les plantes dels tractaments control d'Argentina i Torre Marimon de 2-3Fa als 30 i 40 DDT.

4.4.1. Avaluació del nombre de fulles

Taula 4.12. Variació mitjana del nombre de fulles (ΔDi) del grup de tractament 2-3Fa en el total de plantes de *D. Sanguinalis* de cada tractament amb glifosat. Els requadres amb un guió (-) representen els tractaments en què no hi ha dades. Procedència (Arg= Argentina, TM= Torre Marimon), x= dosi de glifosat recomanada, $\Delta D10$ = variació al dia 10, sempre respecte el dia de tractament (0 DDT).

Procedència	dosi	$\Delta D10$	$\Delta D20$	$\Delta D30$	$\Delta D40$
Arg	control	0,40	0,89	1,34	2,04
Arg	1/2x	-0,04	-0,95	-	-
Arg	3/4x	-0,27	-0,92	-	-
Arg	x	-0,03	-0,97	-	-
Arg	2x	-0,12	-1,00	-	-
Arg	4x	-0,33	-1,00	-	-
Arg	8x	-0,65	-1,00	-	-
TM	control	0,32	0,36	0,08	0,08
TM	1/2x	0,04	-1,00	-	-
TM	3/4x	-0,06	-0,92	-	-
TM	x	-0,14	-0,90	-	-
TM	2x	0,07	-0,97	-	-
TM	4x	-0,33	-1,00	-	-
TM	8x	-0,80	-1,00	-	-

Taula 4.13. Variació mitjana del nombre de fulles (ΔDi) al grup de plantació 2-3Fb en el total de plantes de *D. Sanguinalis* de cada tractament amb glifosat. Procedència (Arg= Argentina, TM= Torre Marimon), x= dosi de glifosat recomanada, $\Delta D10$ = variació al dia 10, sempre respecte el dia de tractament (0 DDT).

Procedència	dosi	$\Delta D10$	$\Delta D20$
Arg	control	0,27	0,69
Arg	1/2x	0,03	-1,00
Arg	3/4x	-0,63	-1,00

Arg	x	-0,12	-1,00
TM	control	0,29	1,01
TM	1/2x	-0,20	-0,93
TM	3/4x	-0,42	-1,00
TM	x	-0,64	-1,00

Per veure les diferències que es poden donar en el nombre de fulles de *D. sanguinalis* segons la dosi de tractament, es consideraran els increments d'aquest valor per cada planta. Per a totes les dosis aplicades de glifosat es tenen valors de el increment des del dia de tractament (0 DDT) als 10 dies de tractament (10 DDT), que a partir d'ara correspondrà a $\Delta D10$, i el increment des del 0 DDT fins als 20 dies del tractament (20 DDT), que correspondrà a $\Delta D20$.

Taula 4.14. Anàlisi de la variància de la variació mitjana del nombre de fulles als $\Delta D10$ i $\Delta D20$, del grup de plantació 2-3Fa, considerant com a fonts de variació la procedència de la llavor, la dosi de tractament i la interacció entre aquestes dues.

		Font de variació	Valor F	Probabilitat
$\Delta D10$	2-3Fa	Procedència	1.74	0.1874
		Dosi	53.27	<.0001
		Interacció	2.44	0.0242
	2-3Fb	Procedència	11.76	0.0006
		Dosi	84.28	<.0001
		Interacció	10.69	<.0001
$\Delta D20$	2-3Fa	Procedència	6.80	0.0093
		Dosi	323.77	<.0001
		Interacció	11.06	<.0001
	2-3Fb	Procedència	0.17	0.6773
		Dosi	426.13	<.0001
		Interacció	1.48	0.2202

De l'anàlisi de la significació, se'n desprèn amb una confiança del 95% que als 10DDT de la població 2-3Fa i als 20 DDT de la població 2-3Fb, la variació del nombre de fulles no ha anat lligat a la procedència de la llavor (Taules 4.13 i

4.14), Si s'analitzen les dades en funció de la dosi aplicada de glifosat, sí que hi ha significació en totes les poblacions.

Taula 4.15. Separació de mitjanes de la variació mitjana del nombre de fulles (expressades en tant per u), $\Delta D10$ i $\Delta D20$, segons la procedència de les llavors de *D. sanguinalis* (Test Tukey) tractades a estadi fenològic 2-3 fulles (2-3Fa). Els valors de mitjana amb diferent lletra són significativament diferents a una $P=0.05$ (Test de Tukey).

Procedència	Mitjana $\Delta D10$		Mitjana $\Delta D20$	
	2-3Fa	2-3Fb	2-3Fa	2-3Fb
TM	-0.10 a	-0.23 b	-0.77 b	-0.53 a
Arg	-0.15 a	-0.09 a	-0.70 a	-0.50 a

Taula 4.16. Separació de mitjanes de la variació mitjana del nombre de fulles (expressades en tant per u), $\Delta D10$ i $\Delta D20$, segons el tractament aplicat sobre les plantes de *D. sanguinalis* (Test Tukey) tractades a estadi fenològic 2-3 fulles (2-3Fa). Els valors de mitjana amb diferent lletra són significativament diferents a una $P=0.05$ (Test de Tukey).

Dosi	Mitjana $\Delta D10$		Mitjana $\Delta D20$	
	2-3Fa	2-3Fb	2-3Fa	2-3Fb
Control	0.68 a	0.34 a	0.638 a	0.83 a
0.5x	0.00 b	-0.04 b	-0.97 b	-0.95 b
0.75x	-0.32 bc	-0.55 c	-0.919 b	-1.00 b
X	-0.15 b	-0.40 c	-0.93 b	-1.00 b
2x	-0.08 b	-	-0.98 b	-
4x	-0.53 c	-	-1.00 b	-
8x	-1.00 d	-	-1.00 b	-

Tal com es pot veure en els resultats obtinguts de l'anàlisi de la variància mostrats en la Taula 4.16, en el grup de plantació 2-3Fa als 10 DDT, els

tractaments control presenten una variació del nombre de fulles significativament diferent a la resta dels tractaments. Passa el mateix amb les plantes tractades amb les dosis de 4x i 8x.

A la població 2-3Fb el control, al igual que en l'altre població, es diferencia de la resta. El tractament 0.5x també en aquest cas és diferent als altres.

Als 20 DDT, amb els resultats obtinguts de la separació de mitjanes mitjançant el test de Tukey, les dues poblacions tenen el control que es diferencia significativament de la resta. Tots els altres tractaments són estadísticament iguals entre ells.

4.4.1.1. Corba dosi- resposta

A la Figura 4.3 es mostren les regressions obtingudes a partir de les dades quan s'han tractat amb glifosat en estadi 2-3 fulles, s'observa que no hi ha diferències segons la procedència als 10 DDT, tal com s'ha obtingut de l'anàlisi de la variància fet anteriorment (Taula 4.14). Les dues funcions de regressió són molt semblants entre elles, mostrant valors de variació del nombre de fulles en plantes de Torre Marimon en tot moment inferior a les argentines.

Als 20 DDT (Figura 4.4) les variacions en el nombre de fulles ha disminuït considerablement respecte als 10 DDT (ha hagut una disminució del nombre de fulles superior al que hi havia el dia en que es va fer el tractament). A la figura es pot observar que no hi ha diferències segons la procedència, tal com s'ha obtingut de l'anàlisi de la variància fet anteriorment (Taula 4.14).

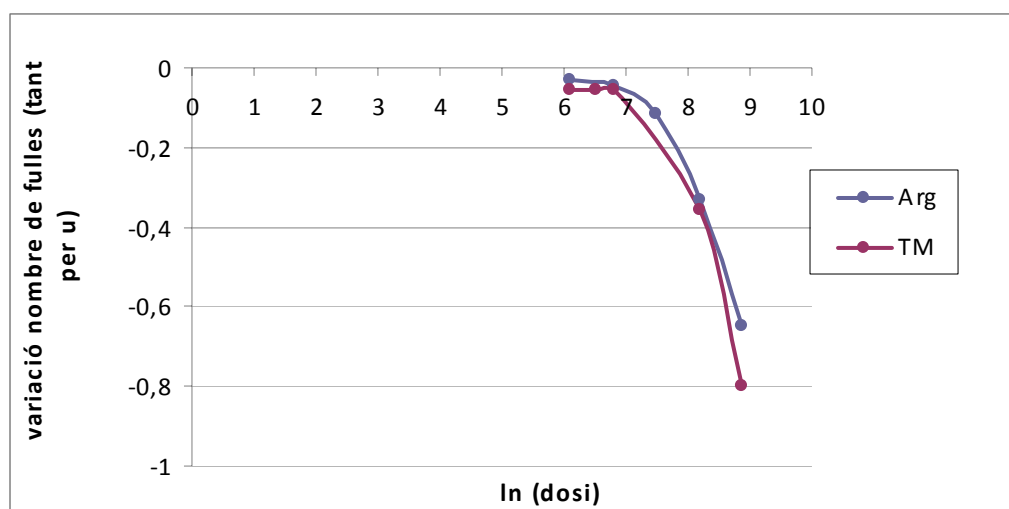


Figura 4.3. Corba dosi- resposta log-logarítmica del tant per u de variació del nombre de fulles als 10 dies després de tractament en plàntules de *D. sanguinalis* d'Argentina i de Torre Marimon tractades a estadi 2-3 fulles (2-3Fa).

Arg: variació nombre de fulles = $-0.88 + ((-0.03 + 0.88) / (1 + \exp((2.28) \cdot (\ln(\text{dosi}) - \ln(4649.7))))))$

TM: variació nombre de fulles = $-0.80 + ((-0.05 + 0.80) / (1 + \exp((11) \cdot (\ln(\text{dosi}) - \ln(3729.5))))))$

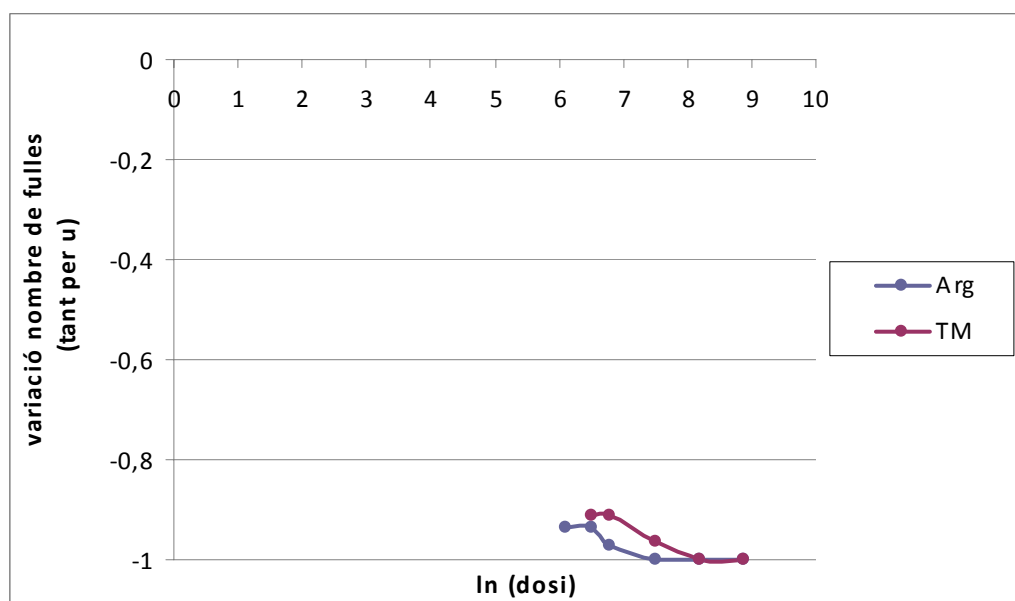


Figura 4.4. Corba dosi- resposta log-logarítmica del tant per u de variació del nombre de fulles als 20 dies després de tractament en plàntules de *D. sanguinalis* d'Argentina i de Torre Marimon tractades a estadi 2-3 fulles (2-3Fa).

Arg: variació nombre de fulles = $-1 + ((-0.94 + 1) / (1 + \exp((43.69) \cdot (\ln(\text{dosi}) - \ln(893.7))))))$

TM: variació nombre de fulles = $-1 + ((-0.91 + 1) / (1 + \exp((17.74) \cdot (\ln(\text{dosi}) - \ln(1757.7))))))$

4.4.2. Avaluació del percentatge de mortalitat

A mesura que es duia un control del nombre de fulles per planta, s'anotaven les plantes que havien mort, cada 10 dies. A partir de les dades obtingudes, s'ha calculat el percentatge de mortalitat de cada grup de tractament.

Taula 4.17. Percentatge de mortalitat promig al grup de plantació 2-3Fa en el total de plantes de *D. sanguinalis* de cada tractament amb glifosat. Procedència (Arg= Argentina, TM= Torre Marimon), x= dosi de glifosat recomanada, DDT= dies després de tractament.

Procedència	Dosi	0 DDT	10 DDT	20 DDT	30 DDT	40 DDT
Arg	Control	0	2.04	2.04	4.00	4.00
Arg	1/2x	0	14.89	95.74	-	-
Arg	3/4x	0	31.91	93.62	-	-
Arg	X	0	11.11	98.15	-	-
Arg	2x	0	16.67	100	-	-
Arg	4x	0	36.17	100	-	-
Arg	8x	0	68.09	100	-	-
TM	Control	0	2.17	23.91	57.14	66.67
TM	1/2x	0	4.26	100	-	-
TM	3/4x	0	2.53	12.08	-	-
TM	X	0	17.78	93.33	-	-
TM	2x	0	6.67	97.78	-	-
TM	4x	0	28.89	100	-	-
TM	8x	0	82.22	100	-	-

Taula 4.18. Percentatge de mortalitat (%M) al grup de plantació 2-3Fb en el total de plantes de *D. sanguinalis* de cada tractament amb glifosat. Procedència (Arg= Argentina, TM= Torre Marimon), x= dosi de glifosat recomanada, DDT= dies després de tractament.

Procedència	Dosi	10 DDT	20 DDT
Arg	control	3,70	7,41
Arg	1/2x	17,59	100
Arg	3/4x	68,52	100
Arg	x	35,19	100
TM	control	12,04	9,26
TM	1/2x	31,48	94,44
TM	3/4x	46,61	100
TM	x	67,44	100

Segons els resultats obtinguts després d'haver fet l'anàlisi de la variància mitjançant el test de Tukey, es pot afirmar amb una confiança del 95%, que als deu i vint dies després de tractament la resposta en la mortalitat segons la procedència de la llavor no presenta diferències significatives. En canvi, sí que ho fa als deu dies de tractament per la dosi d'aplicació (Taula 4.19), en què les plantes a les que s'hi ha aplicat la dosi 8x han presentat una mortalitat significativament superior a la resta.

Taula 4.19. Anàlisi de la variància del nombre de fulles a 10 i 20 DDT a les poblacions 2-3Fa i 2-3Fb, considerant com a fonts de variació la procedència de la llavor i la dosi de tractament. Anàlisi fet amb les dades transformades (arcsinus de la variable en tant per u).

	Estadi Fenològic	Font de variació	Valor F	Probabilitat
10 DDT	2-3Fa	Procedència	0.49	0.5092
		Dosi	12.48	0.0036
	2-3Fb	Procedència	0.39	0.5745
		Dosi	3.58	0.1612
20 DDT	2-3Fa	Procedència	0.63	0.4587

	Dosi	5.75	0.0257
2-3Fb	Procedència	0.86	0.4226
	Dosi	71.07	0.0028

Taula 4.20. Separació de mitjanes del percentatge de mortalitat (expressades en tant per u) segons la procedència de les llavors de *D. sanguinalis* tractades a estadi fenològic 2-3 fulles (2-3Fa). Els valors de mitjana de cada columna amb diferent lletra són significativament diferents a una $P=0.05$ (Test de Tukey).

Procedència	Mitjana 10 DDT		Mitjana 20 DDT	
	2-3Fa	2-3Fb	2-3Fa	2-3Fb
TM	0.23 a	0.41 a	0.89 a	0.90 a
Arg	0.27 a	0.32 a	0.94 a	0.93 a

Taula 4.21. Separació de mitjanes del percentatge de mortalitat (expressades en tant per u) segons el tractament de les plantes de *D. sanguinalis* tractades a estadi fenològic 2-3 fulles (2-3Fa). Els valors de mitjana de cada columna amb diferent lletra són significativament diferents a una $P=0.05$ (Test de Tukey).

Dosi	Mitjana 10 DDT		Mitjana 20 DDT	
	2-3Fa	2-3Fb	2-3Fa	2-3Fb
Control	0.02 b	0.08 a	0.13 b	0.08 b
0.5x	0.10 b	0.25 a	0.99 ab	0.99 a
0.75x	0.18 b	0.58 a	0.62 ab	1.00 a
X	0.15 b	0.51 a	0.96 ab	1.00 a
2x	0.12 b	-	0.99 ab	-
4x	0.32 b	-	1.00 a	-
8x	0.76 a	-	1.00 a	-

Les dues poblacions estudiades han presentat un percentatge de mortalitat als 10 i 20 DDT sense diferències significatives segons la procedència de la llavor. Sí que hi ha divergències segons el tractament de glifosat aplicat, excepte als

10 DDT de la població 2-3Fb. Si es comparen els tractaments de cadascuna de les dues poblacions, es pot veure que les respostes són molt similars.

Als 10 DDT no hi ha diferències significatives entre els tractaments inferiors a 8x (no inclós), a les poblacions 2-3Fa i 2-3Fb. Als 20 DDT hi ha diferències entre tractaments a la població 2-3Fa, però aquestes són lleugeres ($P=0,0257$), en canvi a la població 2-3Fb el control és diferent de la resta de tractaments.

4.4.2.1. Corba dosi-resposta

A la Figura 4.5 es mostren les regressions obtingudes a partir de les dades de mortalitat quan s'han tractat amb glifosat en estadi 2-3 fulles (2-3Fa), s'observa que no hi ha diferències segons la procedència als 20 DDT, tal com s'ha obtingut de l'anàlisi de la variància fet anteriorment (Taula 4.19). Les dues funcions de regressió són molt semblants entre elles, excepte a la dosi 675 g m.a./ha ($\ln(\text{dosi})=6.51$), en què la població de Torre Marimon presenta una mortalitat molt baixa. En general, als 20 DDT el percentatge de mortalitat ha estat proper a 100%.

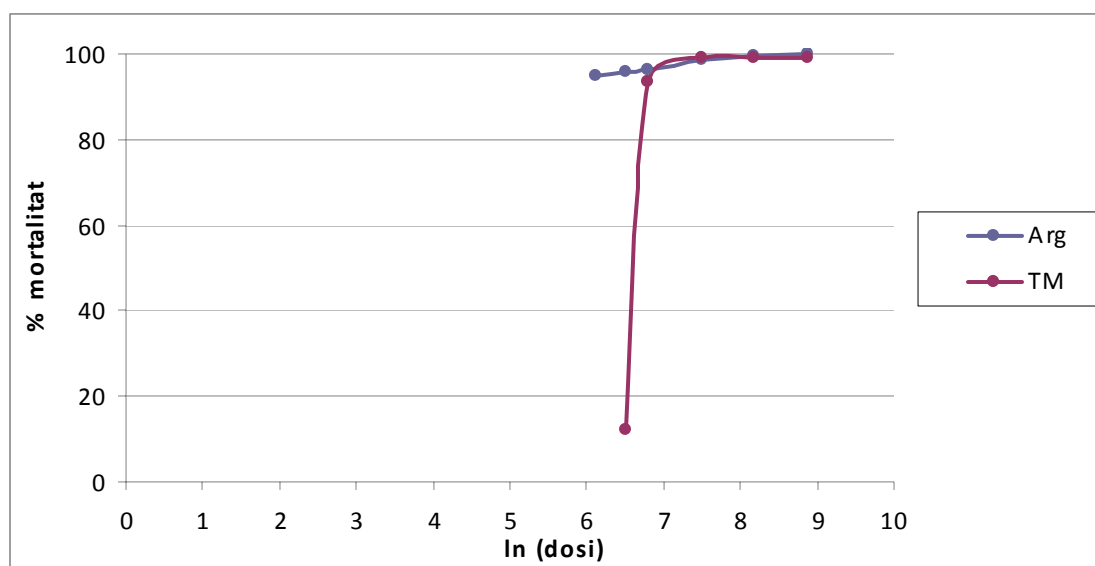


Figura 4.5. Corba dosi- resposta log-logarítmica del percentatge de mortalitat als 20 dies després de tractament en plàntules de *D. sanguinalis* d'Argentina i de Torre Marimon tractades a estadi 2-3 fulles (2-3Fa).

Arg: % mortalitat = $94.39 + ((100.2 - 94.39) / (1 + \exp((-2.20) \cdot (\ln(\text{dosi}) - \ln(1205.8))))$

TM: % mortalitat = $6.75 + ((99.27 - 6.75) / (1 + \exp((-19) \cdot (\ln(\text{dosi}) - \ln(781.8))))$

4.5. Avaluació de l'efecte de l'aplicació de diferents dosis de glifosat sobre plantes de *Digitaria sanguinalis* a estadi 3-4 fulles

En les plantes que s'han tractat amb glifosat a estadi 3-4 fulles se'ls va fer un control del nombre de fulles i de la mortalitat al dia de tractament, i als 10 i 20 dies.

4.5.1. Avaluació del nombre de fulles

En aquest cas, en tractament sobre 3-4 fulles, també es farà l'anàlisi de les dades a partir de les variacions en el nombre de fulles de *D. sanguinalis*. Per a totes les dosis aplicades de glifosat es tenen valors de variació des del dia de tractament (0 DDT) als 10 dies de tractament (10 DDT), que a partir d'ara

correspondrà a $\Delta D10$, i el increment des del 0 DDT fins als 20 dies del tractament (20 DDT), que correspondrà a $\Delta D20$.

A partir de l'anàlisi de la variància (Taula 4.22) es sap que fins al dia 10 les variacions en el nombre de fulles presenten diferències significatives segons la dosi que s'hi ha aplicat. Als 20 dies, aquestes variacions també estan influenciades per la procedència de la llavor.

Taula 4.22. Anàlisi de la variància de la variació mitjana del nombre de fulles als 10 i 20 DDT ($\Delta D10$ i $\Delta D20$, respectivament), en el grup de tractament 3-4F, considerant com a fonts de variació la procedència de la llavor, la dosi de tractament i la interacció entre aquestes dues.

	Font de variació	Valor F	Probabilitat
$\Delta D10$	Procedència	0.20	0.6531
	Dosi	46.10	<.0001
	Interacció	0.86	0.5417
$\Delta D20$	Procedència	7.62	0.0059
	Dosi	186.54	<.0001
	Interacció	2.42	0.0188

Taula 4.23. Separació de mitjanes de la variació mitjana del nombre de fulles (expressades en tant per u), $\Delta D10$ i $\Delta D20$, segons la procedència de les llavors de *D. sanguinalis* tractades a estadi fenològic 3-4 fulles. Els valors de mitjana amb diferent lletra són significativament diferents a una $P=0.05$ (Test de Tukey).

Procedència	Mitjana $\Delta D10$	Mitjana $\Delta D20$
TM	-0.28 a	-0.79 b
Arg	-0.29 a	-0.72 a

Taula 4.24. Separació de mitjanes de la variació mitjana del nombre de fulles (expressades en tant per u), $\Delta D10$ i $\Delta D20$, segons el tractament sobre plantes de *D. sanguinalis* tractades a

estadi fenològic 3-4 fulles. Els valors de mitjana amb diferent lletra són significativament diferents a una $P=0.05$ (Test de Tukey).

Dosi	Mitjana $\Delta D10$	Mitjana $\Delta D20$
Control	0.23 a	0.31 a
0.25x	-0.13 b	-0.64 b
0.5x	-0.10 b	-0.88 bc
x	-0.19 bc	-0.89 cd
2x	-0.27 bc	-0.96 d
4x	-0.35 c	-0.98 d
8x	-0.65 d	-0.99 d
16x	-0.74 d	-1.00 d

Si es fa un anàlisi més detallat es pot comprovar que a $\Delta D10$ les plantes tractades a dosis de control presenten diferències significatives amb la resta de tractaments, ja que és la única dosi amb la que la mitjana de la variació del nombre de fulles de les plantes de *D. sanguinalis*, augmenta.

El grup 8x i 16x entre ells no presenten diferències significatives, però sí que ho fan amb la resta de tractaments. També, les plantes 4x es diferencien significativament de la dels grup 0.25x i 0.5x pel què fa al nombre de fulles als deu dies del tractament.

A $\Delta D20$, mostra que les plantes control són significativament diferents a totes les dels altres tractaments. Les plantes de dosi 0.5x no presenten un nombre de fulles significativament diferent de les dels tractaments 0.25x i x, però sí que ho fa amb la resta. Li passa el mateix a les plantes tractades a 0.25x, que no presenta diferències significatives només amb x. El nombre de fulles a la resta de tractaments no és significativament diferent.

4.5.1.1. Corbes dosi- resposta

Tal com es mostra a la A la Figura 4.6, les regressions obtingudes a partir de les dades de variació del nombre de fulles quan s'han tractat amb glifosat en

estadi 3-4 fulles, s'observa que no hi ha diferències segons la procedència als 10 DDT, tal com s'ha obtingut de l'anàlisi de la variància fet anteriorment (4.23). Les dues funcions de regressió són molt semblants entre elles i, tal com a succeït quan s'ha fet el tractament a estadi 2-3 fulles, el biotip de Torre Marimon es manté en totes les dosis amb una variació del nombre de fulles inferior que el d'Argentina.

Als 20 DDT (Figura 4.7), les dues funcions de regressió són molt semblants entre elles, tot i haver obtingut a partir de l'anàlisi de la variància (Taula 4.22) que són significativament diferents segons la procedència de la llavor. El rang de resposta que assoleixen aquestes dues poblacions és molt més ampli que en les poblacions tractades a 2-3 fulles, i també es manté la resposta de les plantes de Torre Marimon per sota de les d'Argentina.

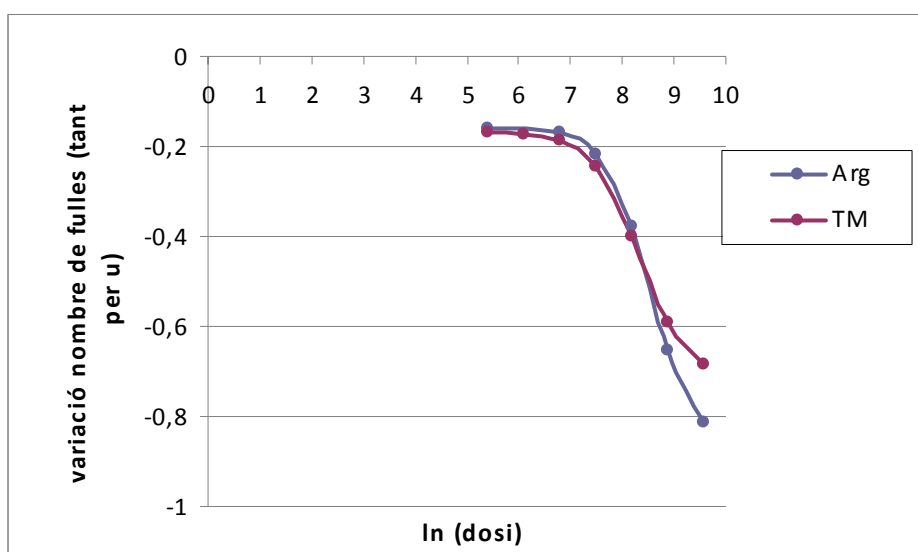


Figura 4.6. Corba dosi- resposta log-logarítmica del tant per u de variació del nombre de fulles als 10 dies després de tractament en plàntules de *D. sanguinalis* d'Argentina i de Torre Marimon tractades a estadi 3-4 fulles.

Arg: variació nombre de fulles = $-0.87 + ((-0.16 + 0.87) / (1 + \exp((2.33) \cdot (\ln(\text{dosi}) - \ln(5084.3))))))$

TM: variació nombre de fulles = $-0.72 + ((-0.17 + 0.72) / (1 + \exp((2.20) \cdot (\ln(\text{dosi}) - \ln(4141.6))))))$

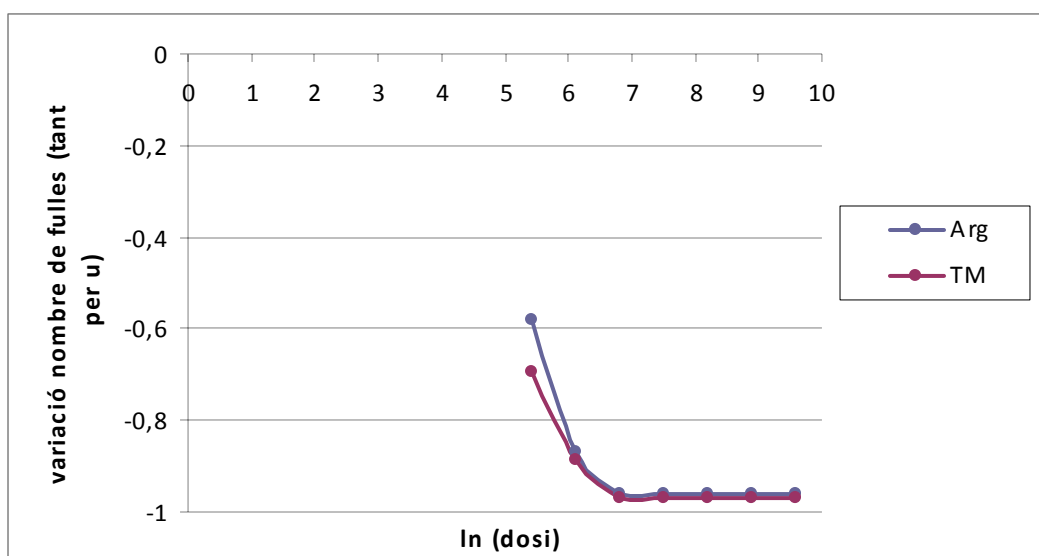


Figura 4.7. Corba dosi- resposta log-logàrítica del tant per u de variació del nombre de fulles als 20 dies després de tractament en plàntules de *D. sanguinalis* d'Argentina i de Torre Marimon tractades a estadi 3-4 fulles.

Arg: variació nombre de fulles = $-0.96 + ((-0.58 + 0.96) / (1 + \exp((44) \cdot (\ln(\text{dosi}) - \ln(438.3))))))$

TM: variació nombre de fulles = $-0.97 + ((-0.70 + 0.97) / (1 + \exp((17.8) \cdot (\ln(\text{dosi}) - \ln(428.7))))))$

4.5.2. Avaluació del percentatge de mortalitat

A mesura que es duia un control del nombre de fulles per planta, s'anotaven la mortalitat, als 10 i 20 DDT. A partir de les dades obtingudes, s'ha calculat el percentatge de mortalitat de cada tractament.

Taula 4.25. Percentatge de mortalitat de les plantes segons la procedència, la dosis d'aplicació i els dies de tractament.

Llavor	dosi	0 DDT	10 DDT	20 DDT
Arg	control	0	5,56	7,41
Arg	1/4x	0	15,79	63,16
Arg	1/2x	0	11,63	88,37
Arg	x	0	24,39	90,24
Arg	2x	0	32,20	93,22
Arg	4x	0	38,89	98,15
Arg	8x	0	69,49	98,31
Arg	16x	0	81,48	100
TM	control	0	2,08	14,58

TM	1/4x	0	22,22	74,07
TM	1/2x	0	20,75	90,57
TM	x	0	23,08	88,46
TM	2x	0	30,77	100
TM	4x	0	39,58	97,92
TM	8x	0	64,58	100
TM	16x	0	69,81	100

A partir de l'anàlisi de la significació (Taula 4.26) es pot dir que les plantes tractades a 3-4 fulles presenten diferències significatives en el percentatge de mortalitat només segons la dosi d'aplicació, no per la procedència.

Taula 4.26. Anàlisi de la variància del nombre de fulles a 10 i 20 DDT a les poblacions tractades a estadi fenològic 3-4 fulles, considerant com a fonts de variació la procedència de la llavor i la dosi de tractament. Anàlisi fet amb les dades transformades (arcsinus de la variable en tant per u)

	Font de variació	Valor F	Probabilitat
10 DDT	Procedència	0.37	0.5611
	Dosi	47.87	<.0001
20 DDT	Procedència	2.21	0.1805
	Dosi	48.12	<.0001

Taula 4.27. Separació de mitjanes del percentatge de mortalitat (expressades en tant per u) segons la procedència de les llavors de *D. sanguinalis* tractades a estadi fenològic 3-4 fulles. Els valors de mitjana de cada columna amb diferent lletra són significativament diferents a una $P=0.05$ (Test de Tukey).

Procedència	Mitjana 10 DDT	Mitjana 20 DDT
TM	0.35 a	0,90 a
Arg	0.37 a	0.87 a

Taula 4.28. Separació de mitjanes del percentatge de mortalitat (expressades en tant per u) segons el tractament sobre plantes de *D. sanguinalis* tractades a estadi fenològic 3-4 fulles. Els valors de mitjana de cada columna amb diferent lletra són significativament diferents a una $P=0.05$ (Test de Tukey).

Dosi	Mitjana 10 DDT	Mitjana 20 DDT
Control	0.04 c	0.11 d
0.25x	0.19 bc	0.69 c
0.5x	0.16 bc	0.90 bc
X	0.24 bc	0.89 bc
2x	0.31 b	0.98 ab
4x	0.39 b	0.98 ab
8x	0.67 a	0.98 ab
16x	0.76 a	1.00 a

Als 10 dies d'haver fet l'aplicació de glifosat els tractaments 8x i 16x es diferencien significativament de la resta, respecte al percentatge de mortalitat. El control es diferencia dels tractaments 2x, 4x, 8x i 16x. Igualment, les dosis 2x i 4x són diferents del control, 0.25x, 0.5x, x, 8x i 16x.

Quan s'analitzen les mitjanes obtingudes als 20 dies de tractament s'observa que hi ha tres tractaments que entre ells presenten diferències significatives. Hi ha un grup amb el percentatge de mortalitat més elevat format per les dosis 16x, 8x, 4x, 2x, x i 0.5x. El següent grup diferent és el format per la dosi 0.25x. I tots són alhora significativament diferents del control.

4.5.2.1. Corba dosi-resposta

A la Figura 4.8 es mostren les regressions obtingudes a partir de les dades de mortalitat quan s'han tractat amb glifosat en estadi 2-3 fulles (2-3Fa), s'observa que no hi ha diferències segons la procedència als 20 DDT, tal com s'ha obtingut de l'anàlisi de la variància fet anteriorment (Taula 4.26). Les dues funcions de regressió són molt semblants entre elles, presentant per a totes les dosis un percentatge de mortalitat superior les plantes de Torre Marimon respecte les argentines, excepte en la dosi de 900 g m.a./ha ($\ln(\text{dosi})=6.80$) en què s'entrecreuen.

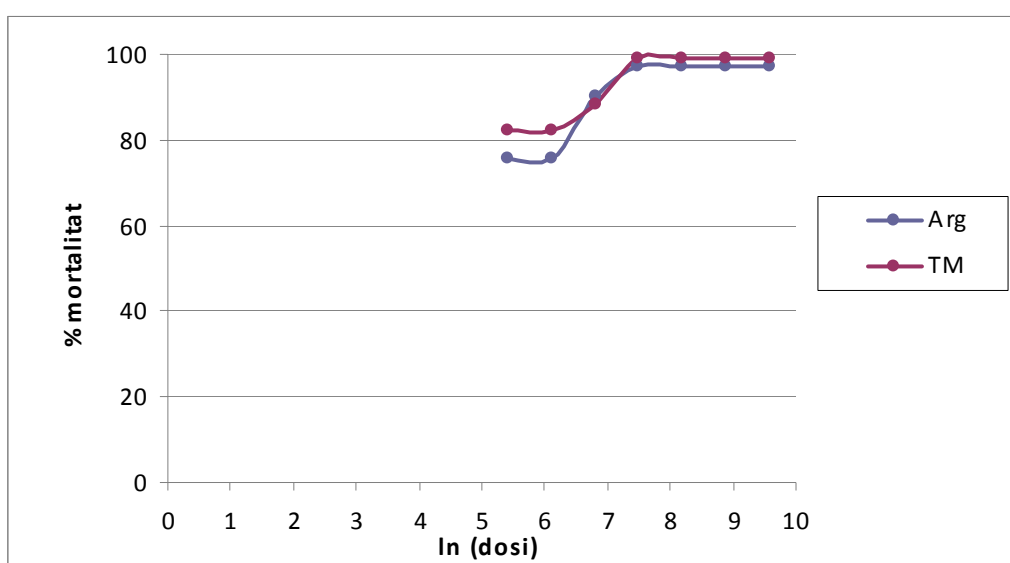


Figura 4.8. Corba dosi- resposta log-logarítmica del percentatge de mortalitat als 20 dies després de tractament en plàntules de *D. sanguinalis* d'Argentina i de Torre Marimon tractades a estadi 2-3 fulles.

Arg: % mortalitat = $75.8 + ((97.4 - 75.8) / (1 + \exp((-25.46) \cdot (\ln(\text{dosi}) - \ln(875.8))))$

TM: % mortalitat = $82.35 + ((99 - 82.35) / (1 + \exp((-20) \cdot (\ln(\text{dosi}) - \ln(924.4))))$

4.6. Biomassa

Les dades que es mostren a continuació es calcularen emprant com a unitats experimentals les safates, que contenen un nombre d'entre 53 i 54 plantes de *D. sanguinalis*.

Taula 4.29. Biomassa total de cada safata (expressada en g/safata) i percentatge de mortalitat (en cursiva) de plantes de *D. sanguinalis* de la població 2-3Fb tractades amb glifosat.

Procedència	dosi	10 DDT	20 DDT
Arg	control	0,038 (3,70%)	0,058 (7,41%)
Arg	1/2x	0,027 (17,59%)	0 (100%)
Arg	3/4x	0,013 (68,52%)	0 (100%)
Arg	x	0,024 (35,19%)	0 (100%)
TM	control	0,034 (12,04%)	0,073 (9,26%)
TM	1/2x	0,024 (31,48%)	0,001 (94,44%)
TM	3/4x	0,01 (46,61%)	0 (100%)
TM	x	0,017 (67,44%)	0 (100%)

Als 20 DDT en els dos tractaments control han mostrat un creixement de la biomassa. En canvi, la resta de tractaments han perdut tota la biomassa, excepte el 0.5x de Torre Marimon, en què el pes ha disminuït considerablement degut a l'elevada mortalitat que ha sofert.

Taula 4.30. Anàlisi de la variància de la germinació acumulada als 4, 8 i 13 DDS, considerant com a fonts de variació la procedència de la llavor, la dosi de tractament i la interacció entre aquestes dues. Anàlisi fet amb les dades transformades (arcsinus de la variable en tant per u).

	Font de variació	Valor F	Probabilitat
10 DDT	Procedència	20.17	0.0206
	Dosi	116.56	0.0013
20 DDT	Procedència	1.18	0.3560
	Dosi	78.82	0.0024

Taula 4.31. Separació de mitjanes de la biomassa (expressada com g/54 plantes) segons la procedència de les llavors de *D. sanguinalis* tractades a estadi fenològic 2-3 fulles (2-3Fb). Els valors de mitjana de cada columna amb diferent lletra són significativament diferents a una $P=0.05$ (Test de Tukey).

Procedència	Mitjana 10 DDT	Mitjana 20 DDT
TM	0.02 b	0.02 a
Arg	0.03 a	0.01 a

Taula 4.32. Separació de mitjanes de la biomassa (expressada com g/54 plantes) segons el tractament sobre plantes de *D. sanguinalis* tractades a estadi fenològic 2-3 fulles (2-3Fb). Els valors de mitjana de cada columna amb diferent lletra són significativament diferents a una $P=0.05$ (Test de Tukey).

Dosi	Mitjana 10 DDT	Mitjana 20 DDT
Control	0.04 a	0.07 a
0.5x	0.03 b	0.00 b
0.75x	0.01 c	0.00 b
x	0.02 b	0.00 b

Segons les dades obtingudes de la separació de mitjanes mitjançant el test de Tukey, no hi ha diferències significatives en la resposta en biomassa segons la procedència de les llavors de *D. sanguinalis*, ni als 10 ni als 20 DDT.

En canvi, si es busquen les divergències segons el tractament aplicat, als 10 DDT es diferencien entre sí significativament els tractaments control, el 0.75x, i els 0.5x i x. Al control fet als 20 DDT, la dosi control presenta diferències significatives amb la resta de tractaments.

4.7. Dosi DR-50

A partir de les regressions fetes per obtenir les funcions que defineixen les corbes log-logarítmiques de dosi- resposta, s'ha obtingut el valor del paràmetre DR-50. Es tracta de la dosi o quantitat de glifosat ($\text{g m.a.} \cdot \text{ha}^{-1}$) necessària per a reduir la resposta al 50% de la planta enfront de l'herbicida que se li aplica.

Tal com es pot veure a la Taula 4.33, en la majoria dels casos es necessita menys dosi de glifosat per tenir un efecte del 50% si l'aplicació es fa en estadis fenològics més avançats.

Taula 4.33. Valors de dosi necessària per arribar a la resposta mitja entre el límit superior i l'inferior dosi (DR50) i la suma de quadrats (χ^2) obtinguda al cacular les regressions corresponents a les poblacions de *D. sanguinalis* tractades en estadi de llavor, 1 fulla, 2-3 fulles (2-3Fa) i 3-4 fulles. També s'afegeix el valor de factor de resistència (FR). Procedència (Arg = Argentina, TM= Torre Marimon).

	Llavor ^(a)		Estadi 1 fulla ^(b)		Estadi 2-3 fulles ^(c)		Estadi 3-4 fulles ^(c)	
Procedència	Arg	TM	Arg	TM	Arg	TM	Arg	TM
DR50	1534.2	3146.4	821,7	2759,9	1205,8	781,8	875,8	924,4
χ^2	0,01	0,0002	0,01	0,004	8,11	3,23	343,2	140,1
FR	0.49	1	0.30	1	1.54	1	0.95	1

^(a)Dades a 8 dies després de tractament. ^(b)Dades a 13 dies després de tractament. ^(c)Dades a 20 dies després de tractament.

Taula 4.34. Valors de dosi necessària per arribar a la resposta mitja entre el límit superior i l'inferior dosi (DR50) i la suma de quadrats (χ^2) obtinguda al cacular les regressions corresponents a les poblacions de *D. sanguinalis* tractades en estadi 2-3 fulles (2-3Fa) i 3-4 fulles. També s'afegeix el valor de factor de resistència (FR). Procedència (Arg = Argentina, TM= Torre Marimon).

	$\Delta D10$				$\Delta D20$			
	2-3Fa		3-4F		2-3Fa		3-4F	
Procedència	Arg	TM	Arg	TM	Arg	TM	Arg	TM
DR50	4649,7	3729,5	893,7	1757,7	5084,3	4141,6	438,3	428,7
χ^2	0,0003	0,02	0,01	0,001	0,0003	0,0002	0,007	0,01
FR	1.25	1	0.51	1	1.23	1	1.02	1

En tots els estadis fenològics en què s'ha estudiat l'efecte del glifosat, s'ha necessitat una major dosi DR50 sobre la mortalitat en llavors i plantes procedents de TM que en les argentines, excepte a estadi 2-3 F. Per aquest motiu el factor de resistència (FR) sempre és inferior a 1, excepte en el cas esmentat.

Com era d'esperar, a estadi llavor es necessita més quantitat de glifosat per afectar a la mortalitat o supervivència de les llavors. En canvi, a estadi 1 fulla la

DR50 disminueix, ja que la planta és molt jove i, per tant, més dèbil. A partir d'aquí, a estadi 2-3 i 3-4 fulles, la DR50 es manté o és lleugerament inferior, excepte en el cas de plantes procedents d'Argentina a fase de 2-3 fulles.

Si el que s'analitza és la variació del nombre de fulles el FR és superior a 1 en tots els casos, menys als 10 DDT i estadi fenològic 3-4 fulles en què és inferior. No es pot afirmar si els valors de FR són significativament diferents a 1, per determinar si hi ha indicis de resistències en alguna de les poblacions estudiades.

Per afectar a la variació del nombre de fulles, quan les aplicacions es fan a estadi 2-3 fulles és necessària una DR50 més elevada en comparació amb 3-4 fulles. Això pot ser degut a que la variació del nombre de fulles és major quan les plantes de *D. sanguinalis* estan en estadi 2-3 fulles que en 3-4 fulles (a partir de les 3 fulles alenteixen el creixement), d'aquesta manera és necessita menys quantitat de glifosat per afectar al seu desenvolupament.

4.8. Mortalitat segons l'estadi fenològic de *Digitaria sanguinalis*

S'ha avaluat la resposta en la mortalitat que ha presentat *D. sanguinalis* al tractament amb glifosat a la dosi recomanada ($x = 800$ g m.a./ha), segons l'estadi de desenvolupament fenològic en què s'ha fet el tractament amb l'herbicida.

El valor de mortalitat del tractament x s'ha considerat respecte al del control, per no considerar l'error experimental i l'efecte de l'atzar en les dades que s'utilitzaran per fer l'anàlisi.

Taula 4.35. Mitjana del percentatge de mortalitat (en tant per u) als 10 DDT de *D. sanguinalis*, pel tractament x , segons la procedència de la llavor i l'estadi fenològic en què s'ha aplicat el glifosat.

Estadi fenològic	Mortalitat (tant per u)	
	Arg	TM
llavor	0,07	0,24
1F	0,58	0,23
2-3Fa	0,12	0,12
2-3Fb	0,32	0,65
3-4F	0,21	0,23

Taula 4.36. Anàlisi de la variància de la mortalitat (en tant per u) als 10 DDT de *D. sanguinalis*, pel tractament x, considerant com a fonts de variació la procedència de la llavor, l'estadi fenològic en què s'ha fet el tractament i la interacció entre aquestes dues. Anàlisi fet amb les dades transformades (arcsinus de la variable en tant per u).

Font de variació	Valor F	Probabilitat
Procedència	0.59	0.4500
Estadi fenològic	10.01	<.0001
Interacció	5.49	0.0018

De l'anàlisi de la significació, se'n desprèn amb una confiança del 95% que el percentatge de mortalitat no ha anat lligat a la procedència de la llavor (Taules 4.35 i 4.36), Si s'analitzen les dades en funció de l'estadi fenològic en què s'ha aplicat el glifosat, sí que hi ha significació en totes les poblacions.

5. DISCUSSIÓ DE RESULTATS

5.1. Germinació de *Digitaria sanguinalis*

Inicialment, es va fer un estudi de la germinació de les llavors de *D. sanguinalis*, en què als 8 dies després de posar-se a cambra de germinació les llavors procedents de la regió Pampeana de l'Argentina presenten un percentatge de germinació d'entre el 71.5 i el 90%, i en les procedents de Torre Marimón, aquest percentatge va des de 89.68 a 96.77. No hi ha diferències significatives en la germinació de les llavors segons la seva procedència.

Halvorson i Guertin (2003), en la seva descripció de l'espècie *D. sanguinalis*, diuen que el percentatge de germinació sobre el total de les que hi ha al banc de llavors del sòl és d'entre 95 i 98%. Tenint en compte que les llavors estudiades han estat agafades de les plantes, assecades i emmagatzemades un llarg període de temps, hauran perdut capacitat germinativa i per això els percentatges obtinguts han estat lleugerament inferiors.

Les llavors de *D. sanguinalis*, tant d'Argentina com de Torre Marimon, van començar a germinar a partir de les 30h d'estar a la cambra de germinació, en els casos en que s'havien tractat amb glifosat i en els que no. Halvorson i Guertin (2003) havien descrit que aquesta espècies inicia la seva germinació abans de 48h d'haver-se sembrat.

5.2. Efecte del glifosat sobre llavors de *Digitaria sanguinalis*

Als 8 DDT les plantes tractades en estadi de llavor presenten diferències significatives segons la seva procedència i segons el tractament que se'ls hi ha aplicat.

El percentatge de germinació de les llavors de la Regió Pampeana va anar de 53.3% al 90% (control) i les de Torre Marimon va anar del 63.3 al 96.7%, corresponents en els dos casos a les dosis de 3600 g m.a./ha i control, respectivament.

La DR50 pel biotip d'Argentina és de 1534 g m.a./ha i pel de Torre Marimon s'ha necessitat més del doble de dosi de glifosat (3146 g m.a./ha). El factor de resistència, per tant, és inferior a 1, indicant que el biotip de la Regió Pampeana no mostra indicis de tolerància per a percentatge de germinació quan s'ha fet tractament sobre llavors.

Tenint en compte que el glifosat és un herbicida d'acció sistèmica i d'aplicació en postemergència, en aquest estadi fenològic no haurien d'aparèixer diferències segons el tractament. Això segurament és degut a l'efecte que té sobre les plantes ja germinades el glifosat residual que queda a les plaques de Petri, que entra en contacte amb les fulles quan comencen a sortir i la planta encara no ha agafat alçada. Puricelli i Tuesca (2005) van afirmar que no es controla l'eradicació de les males herbes si s'utilitza un herbicida no residual, com el glifosat, abans de la germinació de les llavors.

5.3. Efecte del glifosat sobre *Digitaria sanguinalis* a estadi 1 fulla

En tractaments a estadi fenològic una fulla, el percentatge de mortalitat del grup control va de 0% en plantes TM al 3% en plantes Arg, i en el tractament 4x (3600 g i.a./ha) va de 90% en plantes Arg al 100% en plantes TM.

Als 13 DDT no hi ha diferències significatives en la mortalitat segons la procedència de la llavor, però sí segons el tractament de glifosat. El tractament 4x és significativament diferent a la resta. El 2x també és diferent als altres tractaments excepte amb x. Els grups control, 1/4x i 1/2x presenten una resposta significativament diferent a la resta, excepte amb el tractament 0.75x.

La DR50 pel biotip d'Argentina és de 822 g m.a./ha i pel de Torre Marimon s'ha necessitat més del doble de dosi de glifosat (2760 g m.a./ha). D'aquesta manera el factor de resistència és molt inferior a 1, per la qual cosa es pot afirmar que el biotip de l'Argentina no mostra indicis de tolerància quan s'ha fet tractament sobre *D. sanguinalis* a estadi 1 fulla.

5.4. Efecte del glifosat sobre *Digitaria sanguinalis* a estadi 2-3 fulles

5.4.1. Variació del nombre de fulles

En els tractaments amb glifosat a estadi fenològic 2-3 fulles als 20 DDT en la població 2-3Fb l'anàlisi de la variància, sobre la variació del nombre de fulles, diferencia els biotips de Torre Marimon del de la Pampa, en canvi a la població 2-3Fa no hi ha diferències significatives per aquest factor.

Als 20 DDT totes les dosis aplicades tenen un efecte sense diferències significatives entre elles, només diferenciant-se amb les plantes control. Als 10 DDT succeeix el mateix, excepte en els tractaments 4x i 8x presenten una variació en el nombre de fulles molt superior a la resta de tractaments i significativament diferents, entre ells i amb els altres tractaments.

La DR50 sobre la variació del nombre de fulles als 10DDT per al biotip de *D. sanguinalis* argentí és de 4650 g m.a./ha i per al de Torre Marimon és de 3730g m.a./ha. Als 20 DDT, aquests valors per al biotip d'Argentina és de 894 g m.a./ha, i de 1758 g m.a./ha pel biotip de Torre Marimon.

En un estudi sobre plantes de *Lolium multiflorum* mostra que quan el tractament s'ha fet a estadi 2-3 fulles, en condicions experimentals similars a les realitzades en el present estudi, que la DR50 de glifosat és de 701 g a.i./ha (López et al., 2008), que és molt semblant al que s'ha obtingut amb *D. sanguinalis* procedent de Torre Marimon.

Per determinar si hi ha indicis de tolerància entre dues poblacions els valors de FR solen ser propers a 10 (Heap, 2005), com per exemple l'estudi de Torres et al. (2005) sobre plantes de *Conyza bonariensis*. El factor de resistència als 10 DDT és lleugerament superior a 1, per contra als 20 DDT aquest factor és bastant inferior a 1. Per tant, els valors obtinguts de FR per a variació del nombre de fulles en plantes tractades a estadi 2-3 fulles, indica que no hi ha indicis de tolerància en el biotip de *D. sanguinalis* d'Argentina.

5.4.2. Percentatge de mortalitat

Quan el tractament amb glifosat es va dur a terme a estadi de la plàntula 2-3 fulles, el percentatge de mortalitat no presenta diferències segons la procedència, tant als 10 com als 20 DDT, en canvi, segons la dosi aplicada sí que hi ha, excepte als 10 DDT de la població 2-3Fb. Les dades obtingudes a partir de l'anàlisi d'aquesta població en termes de mortalitat són molt semblants als obtinguts per López et al. (2008) per a plantes de *Lolium multiflorum*.

Els valors de DR50 de la mortalitat de les plantes de *D. sanguinalis* tractades a estadi 2-3 fulles, per al biotip de la Pampa és de 1206 g m.a./ha i per al de Torre Marimon és de 782 g m.a./ha. Això fa que el factor de resistència sigui lleugerament superior a 1, però com que no és proper a 10 (Heap, 2005), es pot afirmar que no hi ha indicis de tolerància en la població argentina.

Juan et al. (2006) va realitzar un estudi similar per plantes de *Euphorbia dentata* en què va trobar que la DR50 de glifosat per aquesta mala herba estava al voltant de 1200 g m.a./ha, valor molt similar al que s'ha obtingut en l'estudi present sobre *D. sanguinalis* pel biotip d'Argentina.

5.4.3. Biomassa

L'anàlisi de les dades de biomassa mostra que als 20 DDT, el biotip de plantes argentines no és significativament diferent al de Torre Marimon. Presenten diferències els valors de biomassa segons el tractament de glifosat, on el control divergeix de la resta. A part, a partir de la dosi 0.5x (450 g m.a./ha) les dues poblacions, Argentina i Torre Marimon, als 20 DDT no presenten diferències en la biomassa en funció del tractament.

5.5. Efecte del glifosat sobre *Digitaria sanguinalis* a estadi 3-4 fulles

5.5.1. Variació del nombre de fulles

En el tractament a 3-4 fulles hi ha diferències significatives als 20 DDT segons si les plantes són procedents d'argentina o són del Vallès Oriental. A part, les dosis emprades també generen diferències en la variació del nombre de fulles de les plantes.

Als 10 DDT els tractaments 8x i 16x (7200 i 14400 g m.a./ha, respectivament) són els que ofereixen una major reducció del nombre de fulles en les plantes, contraposat al grup control que és l'únic en el que augmenta aquest valor. Als 20 DDT succeeix el mateix, amb la diferència que a partir de la dosi 225 g m.a./ha la resposta als tractaments no són diferents. El control torna a ser l'únic diferent significativament de tota la resta de tractaments, amb un valor de variació del nombre de fulles positiu.

La DR50 sobre la variació del nombre de fulles als 10DDT per al biotip de *D. sanguinalis* argentí és de 5084 g m.a./ha i per al de Torre Marimon és de 4142 g m.a./ha. Als 20 DDT, aquests valors per al biotip d'Argentina és de 438 g m.a./ha, i de 429 g m.a./ha pel biotip de Torre Marimon. El factor de resistència als 10 i 20 DDT és lleugerament superior a 1, però en no ser proper a 10 (Heap, 2005) indica que no hi ha indicis de tolerància en les dues poblacions avaluades.

5.5.2. Percentatge de mortalitat

Als tractaments a estadi fenològic 3-4 fulles, la mortalitat no presenta diferències segons procedència de les llavors. Sí que hi ha diferències en funció del factor dosi. Als 10 DDT els tractaments 8x i 16x (7200 i 14400 g m.a./ha, respectivament), mostren uns percentatges de mortalitat significativament superiors a la resta. Als 20 DDT els tractaments amb glifosat no presenten diferències importants entre ells (mortalitat > 69%), però en aquest cas, sí que divergeixen amb el control, que presenta una mortalitat de l'11%.

Sobre les plantes de *D. sanguinalis* la mortalitat del 90% s'assoleix a partir de la dosi de 450 g m.a./ha. Com s'ha observat en un estudi fet a l'any 1994 sobre plantes de *Chenopodium album* i *Abutilon theophrasti*, s'aconsegueix un bon control amb una dosi de glifosat de 820g m.a./ha (Lich, 1997).

Els valors de DR50 de la mortalitat de les plantes de *D. sanguinalis* tractades a estadi 2-3 fulles, per al biotip de l'Argentina és de 876 g m.a./ha i per al de Torre Marimon és de 924 g m.a./ha. Això fa que el factor de resistència sigui lleugerament inferior a 1, sense poder-se afirmar que hi ha indicis de tolerància en la població argentina. Un estudi realitzat sobre plantes de *Conyza bonariensis* tractades a diferents dosis de glifosat afirma que la DR50 als 23 DDT és de 400 g m.a./ha, que és la meitat del que s'ha necessitat per *D. sanguinalis*, i el control total de la població de *C. bonariensis* es va assolir amb una dosi de 560 g m.a./ha (Torres et al., 2005).

5.6. Efecte del glifosat segons l'estadi fenològic de *Digitaria sanguinalis*

L'anàlisi de la variàcia de la variable percentatge de mortalitat en funció de l'estadi fenològic de les plantes per a la dosi recomanada de glifosat indica que hi ha diferències significatives segons l'estadi fenològic, i no segons la procedència de la llavor. La importància de l'estadi en el que es fan els tractaments amb glifosat ja s'havia demostrat en altres estudis, com el de Ramsey et al. (2003) sobre plantes de *Imperata cylindrica*.

5.7. DR50

En tots els estadis fenològics en què s'ha estudiat l'efecte del glifosat sobre la mortalitat de les plantes, s'ha necessitat una major dosi DR50 en llavors i plantes procedents de TM que en les argentines, excepte a estadi 2-3 F. Per aquest motiu el factor de resistència (FR) sempre és inferior a 0, excepte en el cas esmentat. Dada que indica que no hi ha indicis de tolerància del biotip d'Argentina respecte al glifosat.

Si el que s'analitza és la variació del nombre de fulles el FR és lleugerament superior a 1 en tots els casos, menys als 10 DDT i estadi fenològic 3-4 fulles en què és inferior. No es pot afirmar si els valors de FR són significativament diferents a 1, però com que no són propers a 10 (Heap, 2005), és possible que indiqui que no hi ha indicis de toleràncies en cap de les poblacions estudiades.

L'avaluació feta sobre altres males herbes anuals mostra que a mesura que avança el moment d'aplicació del glifosat, la DR50 va disminuint (Faccini i Puricelli, 2003).

Els valors de DR50 de glifosat obtinguts per controlar les plantes de *D. sanguinalis* han estat molt superiors als obtinguts per controlar altres males herbes anuals, no gramínies, (Madsen et al., 1999; Puricelli et al., 2000; Faccini i Puricelli, 2003), però molt similars als obtinguts per López et al. (2008) pel control de *Lolium multiflorum*.

Pels valors de factor de resistència (FR) que s'han obtingut al transcurs de l'estudi, que van de 0.30 a 1.54, sembla que no hi ha diferències entre la resposta dels biotips de *D. sanguinalis* procedents de l'Argentina (possible tolerància) i els de Torre Marimón (població susceptible).

6. CONCLUSIONS

S'ha analitzat la resposta de *D.sanguinalis* a l'herbicida glifosat aplicat en diferents estadis fenològics de les plantes, comparant dos biotips, un procedent de la Regió Pampeana (possible tolerància al glifosat) i l'altre del Vallès Oriental (susceptible al glifosat).

La germinació de les llavors de *D. sanguinalis* no presenta diferències significatives segons la seva procedència. L'inici de la germinació ha estat a les 30 hores després d'haver sembrat. Al cap de 8 dies després de sembrar entre el 71.5 al 96.77% de les llavors han germinat.

L'estadi fenològic en què es troben les plantes en el moment de fer el tractament té influència sobre la resposta de la planta.

En la major part de les poblacions de *D. sanguinalis* estudiades no han presentat diferències significatives en la resposta segons si les llavors eren de la Regió Pampeana o de Torre Marimon.

La dosi DR50 per controlar les plantes de *D. sanguinalis*, si els tractaments es fan sobre llavor, és molt més superior que en la resta de tractaments.

És necessària una dosi de glifosat DR50 més elevada per controlar la mortalitat de les plantes de *D. sanguinalis* de Torre Marimon que de l'Argentina. Passa el contrari quan es controla la variació del nombre de fulles.

Sembla que no hi ha diferències entre la resposta dels biotips de *D. sanguinalis* procedents de l'Argentina (possible tolerància) i els de Torre Marimón (població susceptible).

7. BIBLIOGRAFIA

- Adkins, S.W.; Tanipat, S.; Swarbrick, J.T. i Boersma, M.** Influence of environmental factors on glyphosate efficacy when applied to *Avena fatua* or *Urochloa panicoides*. *Weed Resources*, 1998, vol. 38, p. 129-138.
- Baerson, S.R.; Rodriguez, D.J.; Tran, M.; Feng, Y.; Biest, N.A. i Dill, G.M.** Glyphosate-Resistant Goosegrass. Identification of a Mutation in the Target Enzyme 5-Enolpyruvylshikimate-3-Phosphate Synthase. *Plant Physiology*, 2002, vol. 129, p. 1265-1275.
- Baird, D.D.; Upchurch, R.P.; Homesley, W.B. i Franz, J.E.** Introduction of a new broad spectrum post emergence herbicide class with utility for herbaceous perennial weed control . A: *Proceedings of the 26th North Central Weed Conference*. North Central Weed Science Society, Omaha, 1971, p. 64-68.
- Behrendt, S. i Hanf, M.** *Malezas gramíneas en los cultivos agrícolas*. Eisenberg, Alemania. Ed. Basf. 1979.
- Bernaudo, G.** El papel de la soja en los planteos de producción zonales: Zona Litoral. A: Satorre, E. (ed.) *El libro de la Soja*. Servicios y Marketing Agropecuario, Buenos Aires, Argentina, 2003, p.189-197.
- Bolòs i Capdevila, O.** *Vegetació dels Països Catalans*. Catalunya, Espanya. Ed.Aster, 2001.
- Dyer, W. E.; Hess, F. D.; Holt, J. S. and Duke, S. O.** Potential benefits and risks of herbicide-resistant crops produced by biotechnology. *Horticultural Reviews (USA)*, 1993, vol. 15, p. 367-408.
- Cole, D.J.** Mode of action of glyphosate ± a literature analysis, A: Grossbard, E. i Atkinson, D. (ed.) *The Herbicide Glyphosate.*, Butterworths, London, 1984, p. 48-74.

- Faccini, D i Puricelli, E.** 2003. Revista de Investigaciones de la Facultad de Ciencias Agrarias [en línia]: *Control de Datura ferox L. y Chenopodium album L. con glifosato aplicado en diferentes momentos y dosis en soja transgénica.* [Consulta: maig 2008] Disponible a: <<http://www.fcagr.unr.edu.ar/Investigacion/revista/rev3/2.htm>>
- Franz, J.E.; Mao, M.K. i Sikorski, J.A.** *Glyphosate: A unique global herbicide.* American Chemical Society Monograph 189, Washington DC, 1997. ISBN 08-412-34582.
- Gallart, M.; Verdú, A.M.C. i Mas, M.T.** Dormancy braking in *Digitaria sanguinalis* seeds: the role of the caryopsis covering structures. *Seed Science and Technology* (en premsa).
- García, L. i Fernández-Quintanilla, C.** Fundamentos sobre malas hierbas y herbicidas. Madrid, España. Ediciones Mundi-Prensa i Ministeri d'Agricultura, pesca i alimentació, 1991.
- Giraldo Canas, D.** The Colombian species of the genus *Digitaria* (Poaceae: Panicoideae: Paniceae). *Caldasia*, 2005, vol. 27, núm. 1, p. 25-87.
- Grignac, P.** The evolution of resistance to herbicides in weedy species. *Agro-Ecosystems*, 1978, vol. 4, p. 377-385.
- Häfliger, E. i Basilea, L.** Tablas CIBA-GEIGY de malas hierbas. Basle, Suiza. CIBA-GEIGY, 1972.
- Halvorson, W.L. i Guertin, P.** 2003. Southern Arizona Data Services Program [en línia]: *Status of Introduced Plants in Southern Arizona Parks. Factsheet for: Digitaria sanguinalis (L.) Scop.* [Consulta: maig 2008] <<http://sdrsnet.snr.arizona.edu/data/sdrs/www/docs/digisang.pdf>>

- Heap, I.** 2005. Weed science.com [en línia]: *Criteria for Confirmation of Herbicide-Resistant Weeds - with specific emphasis on confirming low level resistance*. [Consulta: juliol 2007]. Disponible a:
<<http://www.weedscience.org/resgroups/Detect%20Resistance.pdf>>
- Heering, D.C., DiNicola, N., Sammons, R., Bussler, B., Elmore, G. i Killmer, J.** Glyphosate: A New Model for Resistance Management. A: *Proceedings of the 4th International CropScience Congress*, Australia, 2004.
- Holm, L. G., Plucknett, D. L., Pancho, J. V. i Herberger, J. P.** *The World's Worst Weeds*, East-West Center, Honolulu, 1977.
- Holt, J.S. i Le Baron, H.M.** Significance and distribution of herbicide resistance. *Weed Technology*, 1990, vol. 4, p. 141-149.
- James, C.** *Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2007*. ISAAA Brief No. 37. ISAAA: Ithaca, NY, 2007. ISBN 978-1-892456-42-7.
- Juan, V.F.; Saint-Andre, H.M. i Fernandez, R.R.** Control de Lecheron (*Euphorbia dentata*) con Glifosato. *Planta Daninha*, Viçosa-MG, 2006, vol. 24, núm. 2, p.347-352.
- Lich, J.M.; Renner, K.A. i Penner, D.**, Interaction of glyphosate with post-emergence soybean (*Glycine max*) herbicides. *Weed Science*, 1997, vol. 45, p.12-21 .
- López, R.; Vigna, M. i Gigón, R.** Estudios de Curvas Dosis-respuesta de Poblaciones de *Lolium multiflorum* a Glifosato en el SO de Buenos Aires, Argentina. A: *XVII Congreso latinoamericano malezas*. Ouro Preto, Brasil, 2008.

- MacIsaac, S.A.; Paul, R.N. i Devine, M.D.** A scanning electron microscope study of glyphosate deposits in relation to foliar uptake. *Pestic Science*, 1991, vol. 31, p. 53-64.
- Madsen, K. H.; Blaklow, W. M.; Jensen, J. E. Y Streibig, J. C.** Simulation of herbicide use in a crop rotation with transgenic herbicide-tolerant oilseed rape. *Weed Research*, 1999, vol. 39, p.95-106.
- Marquès, X.; Puig, E.; Puiggrós, J.; Saus, J.; Sebastià, M.T.; Taberner, A. i Vilahors, P.** *Manual de les males herbes dels conreus a Catalunya*. Barcelona, Espanya. Obra agrícola de la Caixa de Pensions, 1983. ISBN 978-84-7231-876-2.
- McWhorter, C.G., Jordan, T.N. i Wills, G.D.** Translocation of ¹⁴C glyphosate in soybeans (*Glycine max*) and johnson grass (*Sorghum halepense*). *Weed Science*, 1980, vol. 28, p. 113-118.
- Monsanto.** 2005. Monsanto Co. [en línia]: *Backgrounder: History of Monsanto's glyphosate herbicides. June 2005*. [Consulta: abril 2008] Disponible a: <http://www.monsanto.com/monsanto/content/products/productivity/roundup/back_history.pdf>
- Moss, S.** 1999. Herbicide Resistance Action Committee [en línia]: *Detecting Herbicide Resistance*. [Consulta: juny 2008]. Disponible a: <<http://www.hracglobal.com/Publications/DetectingHerbicideResistance/tabid/229/Default.aspx>>
- Nalewaja, J.D.; Matysiak, R. i Freeman, T.P.** Spray deposit residuals of glyphosate in various carriers. *Weed Science*, 1992, vol. 40, p.576-589.
- Pengue, W.A.** 1996. Organización de Estados Iberoamericanos [en línia]: *Agricultura argentina. Sustentables, ¿Hasta cuándo?*. [Consulta: abril 2008] Disponible a: <<http://www.oei.es/salactsi/walterp.htm>>

- Puricelli, E. C.; Faccini, D.; Orioli, G. Y Sabbatini, M. R.** Effect of glyphosate doses and soybean row spacing on *Anoda cristata* (L.) Schlecht biomass and seed production. A: *Third International Weed Science Congress*. Foz do Iguassu, 2000, p. 31.
- Puricelli, E., Tuesca, D.** Weed density and diversity under glyphosate-resistant crop sequences. *Crop Protection*, 2005, vol. 2, p. 533–542.
- SAS Institute.** SAS-STAT Users Guide. Version 6.08, vols I,II. *SAS Institute Inc.*, Cary, N.C.0, USA, 1992.
- Schroeder, D.; Mueller-Schaerer, H. i Stinson C.A.S.** A European weed survey in 10 major crop systems to identify targets for biological control. *Weed Research*, 1993, vol. 33, p. 449–458.
- Solomon, K.R.; Anadón, K.A.; Cerdeira, A.; Marshall, J. i Sanín, L.H.** Estudio de los efectos del Programa de Erradicación de Cultivos Ilícitos mediante la aspersión aérea con el herbicida Glifosato (PECIG) y de los cultivos ilícitos en la salud humana y en el medio ambiente. *Comisión Interamericana para el Control del Abuso de Drogas, División de la Organización de los Estados Americanos*, Washington D.C., 2005.
- Satorre, E.** Amenaza u Oportunidad. *El protector del rinde*. Monsanto Argentina, 2003.
- Streibig, J.C.; Rudemo, M. i Jensen, J.E.** Dose-response curves and statistical models. A: Streibig, J.C. i Kudsk, P. (ed.). *Herbicide Bioassays*, CRO Press, Boca Raton, Florida. 1993. p. 30-55.
- Streibig, J.C.** 2003. European Weed Research Society [en línia]: *Chapter 1. Assessment of herbicide effects*. [Consulta: juliol 2007] Disponible a: <http://www.ewrs.org/et/images/Herbicide_interaction.pdf>

- Ramsey, C.L.; Shibu, J.; Miller, D.L.; Cox, J.; Portier, K.M.; Shilling, D.G. i Merritt, S.** Cogongrass [*Imperata cylindrica* (L.) Beauv.] response to herbicides and disking on a cutover site and in a mid-rotation pine plantation in southern USA. *Forest Ecology and Management*, 2003, vol.179, p.195-207.
- Torres, V., Calderón, S., Barnes, J. i Urbano Fuentes-Guerra, J.M.** Determinación de la Gr50 en Cinco Poblaciones de *Conyza Bonariensis* L. Recolectadas en Andalucía Occidental. A: *Malherbologia Ibérica y Magrebí. Soluciones Comunes a Problemas Comunes*. Huelva. Universidad de Huelva, Servicio de Publicaciones. 2005. p. 399-405. ISBN: 84-96373-67-3
- Torriglia, A.** Los agricultores argentinos reducen un 15 % sus costos. A: *Gazeta Mercantil Latinoamericana*, 1999, any 4, p.156.
- United States Department of Agriculture.** [2000?]. Plants database [en línia]: *Plants profile. Digitaria sanguinalis* (L.) Scop. hairy crabgrass. [Consulta: maig 2008] Disponible a: <<http://plants.usda.gov/java/profile?symbol=DISA>>
- Villarias, J.L.** *Atlas de malas hierbas*. Ed. Mundi-Prensa.Madrid, España. 1979. ISBN: 84-7114-082-9.
- Walker, H.L. i Tilley, A.M.** Evaluation of *Curvularia intermedia* (*Cochliobolus intermedius*) as a potential microbial herbicide for large crabgrass (*Digitaria sanguinalis*). *Biological Control*, 2002, vol. 25, p.12-21.
- Watson, L. i Dallwitz, M.J.** 1992 .DELTA:Description Language for Taxonomy. The families of flowering plants: descriptions, illustrations, identification, and information retrieval. [Consulta: abril 2008] Disponible a: <<http://delta-intkey.com/angio/>>
- Webster, T.M. i Coble, H.D.** Purple nutsedge (*Cyperus rotundus*) management in corn (*Zea mays*) and cotton (*Gossypium hirsutum*) rotations. *Weed Technology*, 1997, vol. 11, p. 543-548.

- WeedScience.** 2008. International Survey of Herbicide Resistant Weed [en línia]: *Glycines (G/9) resistant weeds*. [Consulta: maig 2008] Disponible a: <<http://www.weedscience.org/Summary/UspeciesMOA.asp?lstMOAID=12>>
- Weed Science Society of America.** Herbicide Handbook. 7th Edition. *Weed Science Society of America*, Champaign, IL, USA, 1994.
- Weed Science Society of America.** Resistance and Tolerance Definitions. *Weed Technology*, 1998, vol. 12, núm. 4, p. 789.
- Williams, G.M., R. Kroes, and I.C. Munro.** Safety evaluation and risk assessment of the herbicide Roundup and its active ingredient, glyphosate, for humans. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 2000, vol. 31, p. 117-165.
- Wills, G.D.** Factors affecting the toxicity and translocation of glyphosate in cotton (*Gossypium hirsutum*). *Weed Science*, 1978, vol. 26, p. 509-513.
- Wolfenbarger, L.L. i Phifer, P.R.** The Ecological Risks and Benefits of Genetically Engineered Plants. *Science*, 2000, vol. 290, núm. 5499, p. 2088-2093.
- World Wide Web Multilingual Multiscript Plant Name Database.** 2005. Searchable World Wide Web Multilingual Multiscript Plant Name Database [en línia]: *Sorting Digitaria Names*. [Consulta: maig 2008] Disponible a: <<http://www.plantnames.unimelb.edu.au/Sorting/Digitaria.html#sanguinalis>>

8. ANNEXE

Imatges de l'estudi

Figura 8.1. Plaques de Petri amb plàntules de *Digitaria sanguinalis* procedents d'Argentina tractades amb glifosat en estadi de llavor. Fotografies preses als 10 dies després de sembra. Dosi de tractament: 1: control, 2: 0.25x, 3: x, i 4: 4x.

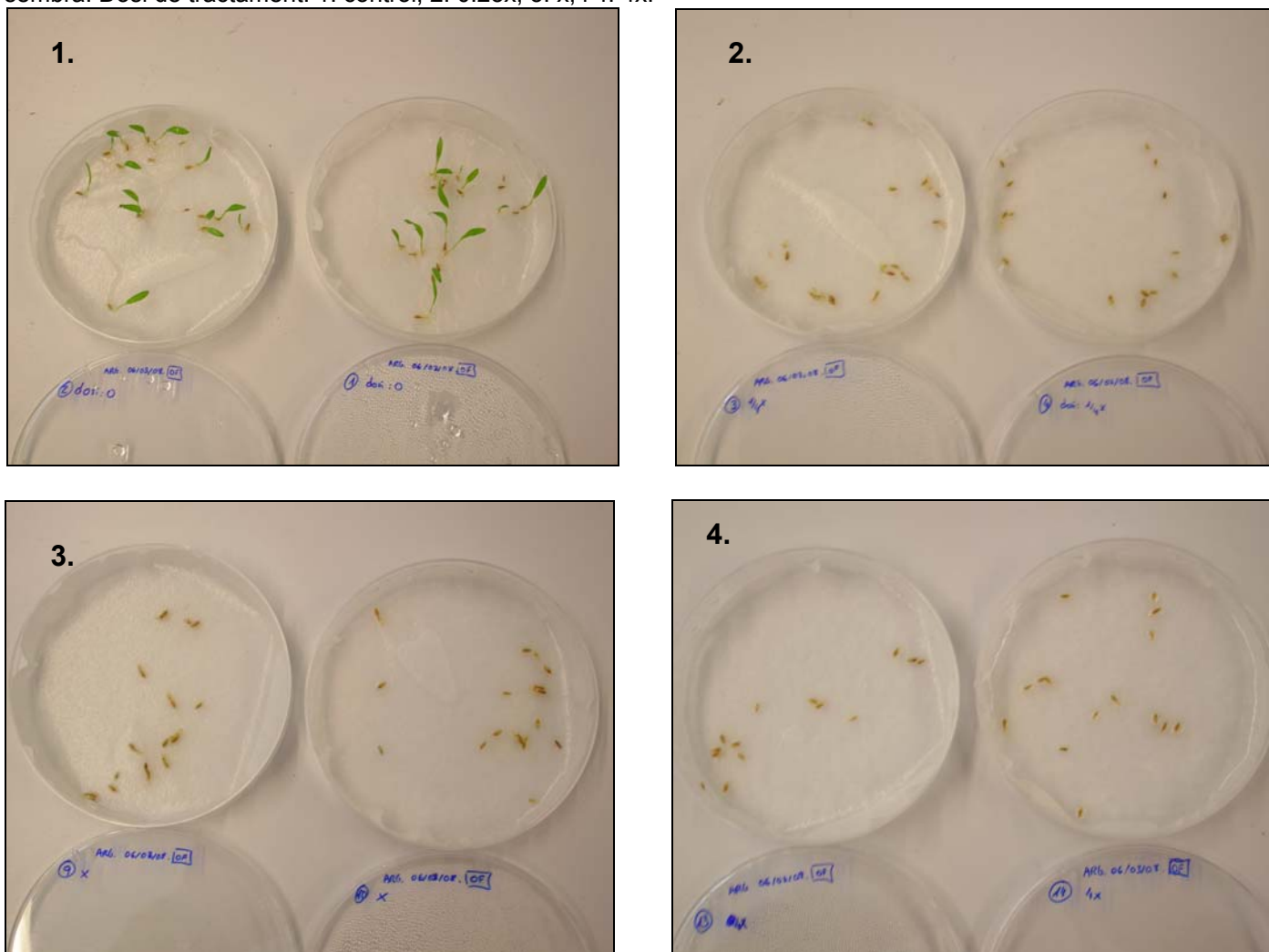


Figura 8.2. Plaques de Petri amb plàntules de *Digitaria sanguinalis* procedents de Torre Marimon tractades amb glifosat en estadi de llavor. Fotografies preses als 10 dies després de sembra. Dosi de tractament: 1: control, 2: 0.25x, 3: x, i 4: 4x.

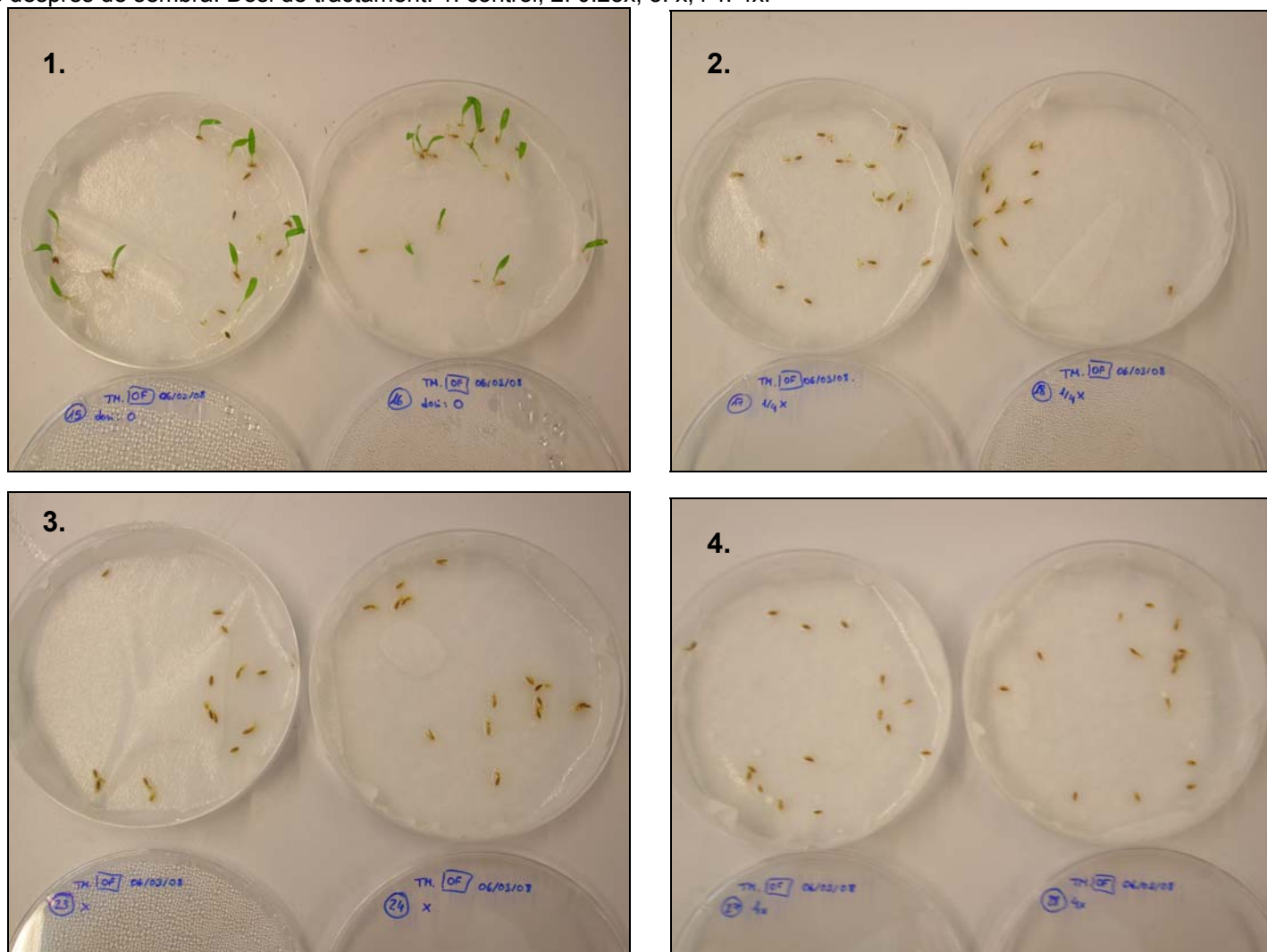


Figura 8.3. Plaques de Petri amb plàntules de *Digitaria sanguinalis* procedents d'Argentina tractades amb glifosat a estadi 1 fulla. Fotografies preses als 10 dies després de tractament. Dosi de tractament: 1: control, 2: 0.5x, 3: x, i 4: 4x.

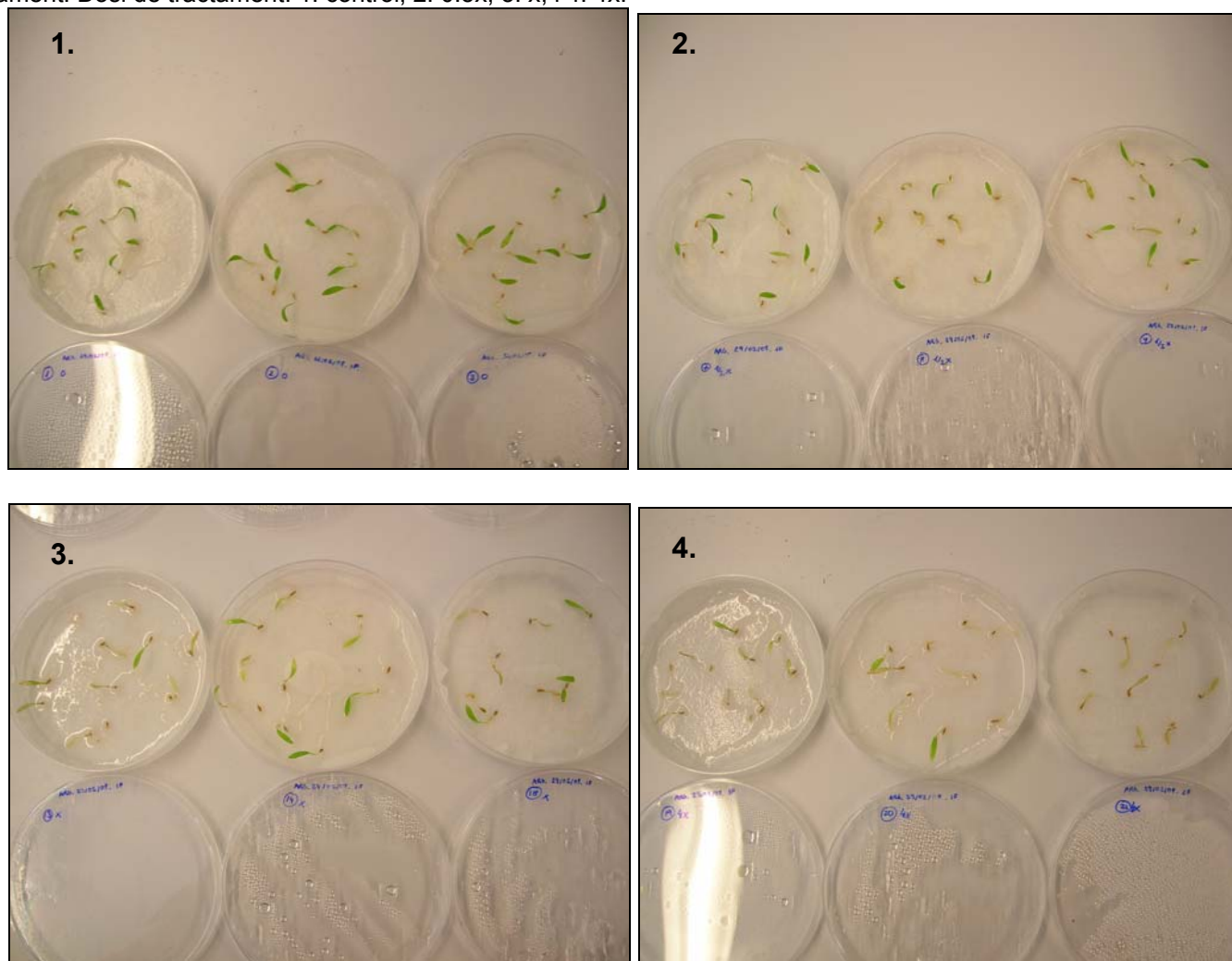


Figura 8.4. Plaques de Petri amb plàntules de *Digitaria sanguinalis* procedents d'Argentina tractades amb glifosat a estadi 1 fulla. Fotografies preses als 10 dies després de tractament. Dosi de tractament: 1: control, 2: 0.5x, 3: x, i 4: 4x.

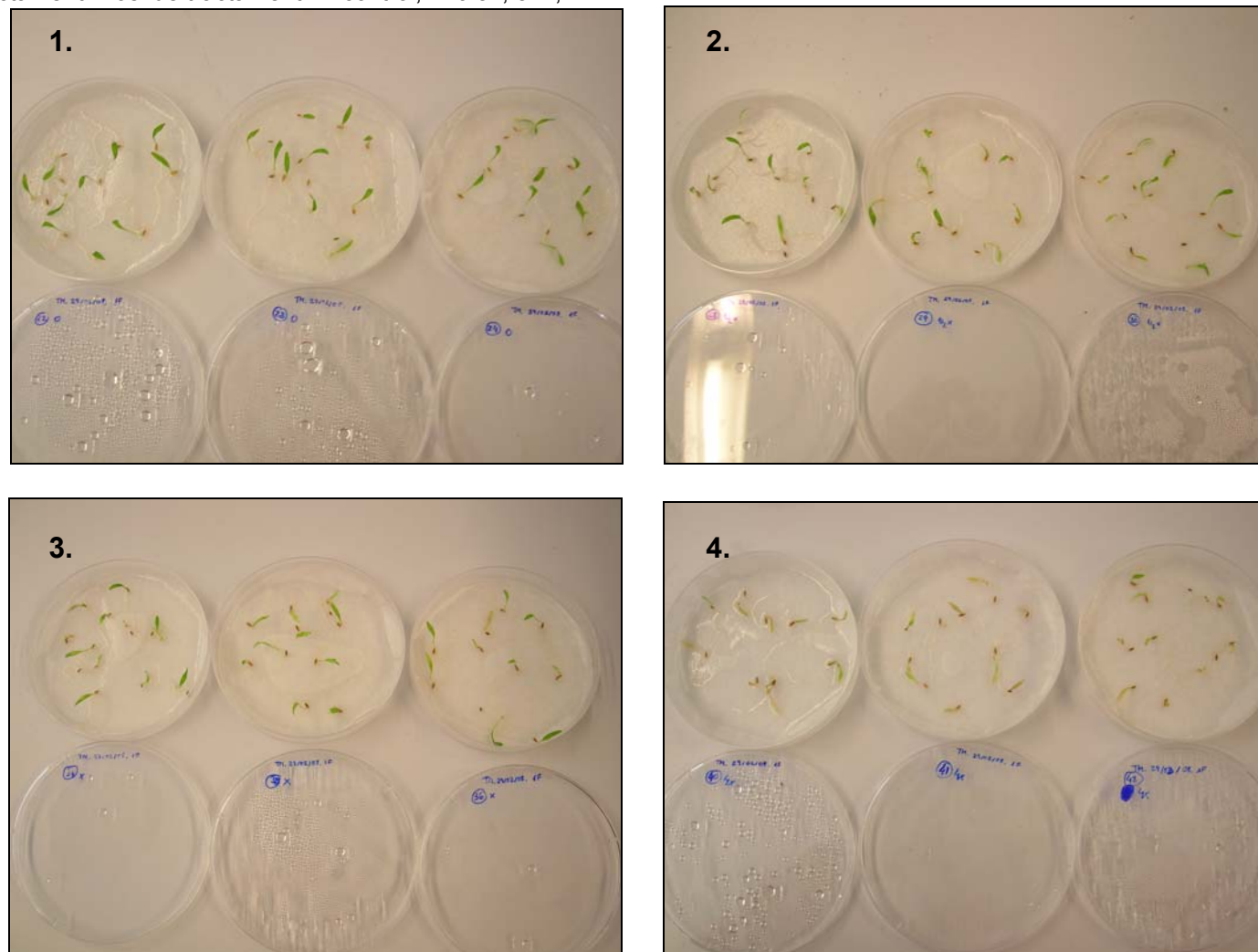


Figura 8.5. Safata control de plantes procedents d'Argentina de *Digitaria sanguinalis* de la població 2-3 fulles (2-3Fa). Fotografies preses als 20 dies després de tractament.



Figura 8.6. Safata de plantes procedents d'Argentina de *Digitaria sanguinalis* de la població 2-3 fulles (2-3Fa) tractada a una dosi 0.5x (450 g m.a./ha) de glifosat. Fotografies preses als 20 dies després de tractament.



Figura 8.7. Safata de plantes procedents d'Argentina de *Digitaria sanguinalis* de la població 2-3 fulles (2-3Fa) tractada a una dosi x (900 g m.a./ha) de glifosat. Fotografies preses als 20 dies després de tractament.



Figura 8.8. Safata de plantes procedents d'Argentina de *Digitaria sanguinalis* de la població 2-3 fulles (2-3Fa) tractada a una dosi 4x (3600 g m.a./ha) de glifosat. Fotografies preses als 20 dies després de tractament.



Figura 8.9. Safata control de plantes procedents de Torre Marimon de *Digitaria sanguinalis* de la població 2-3 fulles (2-3Fa). Fotografies preses als 20 dies després de tractament.



Figura 8.10. Safata de plantes procedents de Torre Marimon de *Digitaria sanguinalis* de la població 2-3 fulles (2-3Fa) tractada a una dosi 0.5x (450 g m.a./ha) de glifosat. Fotografies preses als 20 dies després de tractament.



Figura 8.11. Safata de plantes procedents de Torre Marimon de *Digitaria sanguinalis* de la població 2-3 fulles (2-3Fa) tractada a una dosi x (900 g m.a./ha) de glifosat. Fotografies preses als 20 dies després de tractament.



Figura 8.12. Safata de plantes procedents de Torre Marimon de *Digitaria sanguinalis* de la població 2-3 fulles (2-3Fa) tractada a una dosi 4x (3600 g m.a./ha) de glifosat. Fotografies preses als 20 dies després de tractament.



Figura 8.13. Safata control de plantes procedents d'Argentina de *Digitaria sanguinalis* de la població 3-4 fulles. Fotografies preses als 10 dies després de tractament.



Figura 8.14. Safata de plantes procedents d'Argentina de *Digitaria sanguinalis* de la població 3-4 fulles tractada a una dosi x (900 g m.a./ha) de glifosat. Fotografies preses als 10 dies després de tractament.



Figura 8.15. Safata de plantes procedents d'Argentina de *Digitaria sanguinalis* de la població 3-4 fulles tractada a una dosi 0.5x (450 g m.a./ha) de glifosat. Fotografies preses als 10 dies després de tractament.



Figura 8.16. Safata de plantes procedents d'Argentina de *Digitaria sanguinalis* de la població 3-4 fulles tractada a una dosi 4x (3600 g m.a./ha) de glifosat. Fotografies preses als 10 dies després de tractament.



Figura 8.17. Safata control de plantes procedents de Torre Marimon de *Digitaria sanguinalis* de la població 3-4 fulles. Fotografies preses als 10 dies després de tractament.



Figura 8.18. Safata de plantes procedents de Torre Marimon de *Digitaria sanguinalis* de la població 3-4 fulles tractada a una dosi x (900 g m.a./ha) de glifosat. Fotografies preses als 10 dies després de tractament.



Figura 8.19. Safata de plantes procedents de Torre Marimon de *Digitaria sanguinalis* de la població 3-4 fulles tractada a una dosi 0.5x (450 g m.a./ha) de glifosat. Fotografies preses als 10 dies després de tractament.



Figura 8.20. Safata de plantes procedents de Torre Marimon de *Digitaria sanguinalis* de la població 3-4 fulles tractada a una dosi 4x (3600 g m.a./ha) de glifosat. Fotografies preses als 10 dies després de tractament.



